Med.
STATE UNIVERSITY OF IOWA. LIBRARY.
Class 616.05 C39
v.25
Acc. 9458

UNIVERSITY OF IOWA
3 1858 045 688 474

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. 25. Band.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens,** Direktor der biologischen Anstalt zu Dahlem-Berlin, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. **Delbrück** in Berlin, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädsensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter,** Durham College of Science, New-Castle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Samuel C. Prescott** in Boston, Prof. Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. **Van Laer** in Gand, Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Zweite Abteilung. 25. Band.
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

Mit 22 Tafeln und 20 Figuren im Texte.

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1910

616.05
C3
v.2

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 25. No. 1/4.

Nachdruck verboten.

Emil Christian Hansen.

Von **A. Klöcker**, Kopenhagen.

Mit Porträt.

Am 27. August ist Prof. Dr. Emil Christian Hansen, Vorstand der physiologischen Abteilung des Carlsberg Laboratoriums und Mitherausgeber der 2. Abteilung dieses Centralblattes, nach kurzen Leiden verschieden. Einige Zeit war er etwas kränklich, hauptsächlich nervös gewesen, und zwar der Krankheit seiner treuen Gattin wegen, hoffte aber, daß ein ruhiger Aufenthalt auf dem Lande ihn wieder gesund machen sollte. Leider war dies nicht der Fall; ein bösartiger Darmkatarrh entriß ihn uns hier.

Emil Christian Hansen wurde am 8. Mai 1842 zu Ribe in Jütland geboren, wo sein Vater Zimmermalermeister war. Da der Vater wegen bedrängter Verhältnisse dem Wunsch des Sohnes, sich dem Studium zu widmen, nicht nachkommen konnte, mußte der junge Hansen, nur 13 Jahre alt, als Lehrling bei einem Kufmann eintreten. Dieser Beruf befriedigte ihn aber bei weitem nicht. Der Vater nahm ihn deshalb als Lehrling zu sich, und im Alter von 18 Jahren wurde Hansen Malergeselle. Hierauf begab er sich auf die Wanderschaft und arbeitete bei verschiedenen Meistern. Gleichzeitig nützte er sein Talent als Porträtzeichner aus. Im Jahre 1861 ging er in der Absicht, sich als Künstler auszubilden, nach Kopenhagen. Hier fand er indessen eine günstige Gelegenheit, seine Leselust und seinen Wissensdurst zu befriedigen, und nun wurde die Kunst zugunsten der Wissenschaft aufgegeben.

Hansen fing dann an, sich zum Lehrerexamen vorzubereiten; die notwendigen Geldmittel brachte er durch Privatunterricht zusammen. Hierdurch überarbeitete er sich, und seine Kräfte verließen ihn. Glücklicherweise bekam er die Stelle eines Hauslehrers auf dem Lande, und dort bereitete er im Laufe dieser Jahre sich derartig vor, daß er im Jahre 1864 sich dem Schullehrerexamen unterziehen konnte. Hierauf fing er mit der Vorbereitung zum Lehramtsexamen an. Überanstrengung in Verbindung mit Not warf ihn aber auf ein schweres Krankenlager; seine Hilfsquellen versiegten, und zum zweitenmal mußte er die Stellung eines Hauslehrers auf dem Lande annehmen. Ein Jahr später gelang es ihm, ein Stipendium zu bekommen, das in Verbindung mit den Einnahmen aus dem Privatunterricht ihm ermöglichte, drei Jahre an der technischen Hochschule Naturwissenschaft zu studieren und gleichzeitig sich zum Studentenexamen vorzubereiten; dem letzteren unterzog er sich im Jahre 1871. Hierauf verlegte er sich auf das Studium der Mykologie und der Pflanzenphysiologie mit Chemie als Nebenfach.

Seine erste naturwissenschaftliche Arbeit „Einige Untersuchungen über Torfmoore", welche 1873 erschien, bewegte sich indessen auf einem ganz anderen Gebiete, nämlich auf dem paläontologischen, indem er Pflanzenreste in den dänischen Torfmooren beschrieb. Er zeigte darin, daß mehrere der dänischen Laubbäume viel älter sind, als früher angenommen. Große Aufmerksamkeit erregte seine Entdeckung, daß nicht nur Fraxinus excelsior, sondern auch Fagus silvatica zu den alten Schichten der Torfmoore auf Seeland gehören. Im Jahre 1876 bekam er die goldene

9458

Universitätsmedaille für seine Abhandlung über die dänischen Mistpilze, welche ganz besonders anerkennend beurteilt wurde.

Am 1. Juli 1877 wurde er von dem Brauer Dr. phil. Carl Jacobsen jun. in Ny Carlsberg dazu aufgefordert, gärungschemische und gärungsphysiologische Untersuchungen vorzunehmen, und zwar in der damaligen Brauerei Ny Carlsberg, welche Jacobsen von seinem Vater, dem Kapitän Dr. phil. J. C. Jacobsen, Brauer in Gamle Carlsberg, gepachtet hatte. Gleichzeitig fing Hansen an, auch für letzteren in dem neuerrichteten Carlsberg Laboratorium zu arbeiten. Dieses Laboratorium ist eine Abteilung des von J. C. Jacobsen gestifteten Carlsberg Fonds, dessen Kuratorium die königliche dänische Gesellschaft der Wissenschaften ist. Im Anfange des Jahres 1878 ging er ganz in die Dienste J. C. Jacobsens über und am 1. Januar 1879 wurde er als Direktor der physiologischen Abteilung des Laboratoriums angestellt. Unterdessen hatte er seine Dissertation „Die Organismen des Bieres und der Bierwürze“ ausgearbeitet und erhielt den Grad eines Doctors philosophiae. Diese Arbeit war für ihre Zeit eine sehr bedeutungsvolle. Hansen stand zwar noch hauptsächlich auf dem Standpunkte der Vorgänger, stellte jedoch in mehreren Beziehungen neue Gesichtspunkte auf. Es dauerte auch nicht lange, bis die große Umwälzung kam, die mit Recht den Namen Hansens über die ganze Welt berühmt machte.

Hansen war Botaniker, und als solcher griff er besonders eine Frage an, die zu jener Zeit im ganzen und großen noch vollständig unklar war, nämlich die Hefefrage. Seine Untersuchungen auf diesem Gebiete wurden bahnbrechend und die Grundlage eines neuen und wichtigen Kapitels in der Biologie und in der Gärungstechnik. Sie gaben ferner den Impuls dazu, daß biologische Laboratorien nach dem von dem Carlsberg-Laboratorium gegebenen Muster an den gärungstechnischen Instituten errichtet wurden.

Es gelang Hansen, Methoden ausfindig zu machen, durch welche die zahlreichen Hefearten von einander unterschieden werden können, indem er für jede einzelne Art morphologische und physiologische Charaktere fand. Gleichzeitig arbeitete er Reinzuchtmethoden aus. Bei der Züchtung der einzelnen Arten, jede für sich, sah er, daß einige Arten ein gutes Produkt, andere dagegen ein schlechtes geben; die ersteren sind „Kulturhefen“, die letzteren „wilde Hefen“ oder „Krankheitshefen“. Ferner entdeckte er, daß die guten Kulturhefen Bier von verschiedener Beschaffenheit geben. Er trat dann mit seinem genialen Reinzuchtsystem hervor: Die Brauer sollen nur Kulturhefe aussäen, und zwar nur eine einzelne ausgewählte Art. Wenn eine solche Stellhefe benutzt wird, ist die größte Gefahr, nämlich mit der Stellhefe Krankheitskeime in die Brauerei einzuführen, ausgeschlossen, und man sichert sich ein konstantes und gutes Produkt. Selbstverständlich rief diese radikale Idee zuerst Widerstand hervor, hat aber nach und nach eine vollständige Umwälzung in der Bierindustrie bewirkt, wo die Anschauungen zu jener Zeit in einer ganz anderen Richtung hin gingen. Besonders war es ein allgemein verbreiteter Glaube, daß mehrere Hefearten im Biere gleichzeitig zugegen sein müssten, um die Nachgärung durchzuführen. Auch der berühmte Brauer und Stifter des Carlsberg-Laboratoriums, J. C. Jacobsen, hatte diese Anschauung, und wurde erst durch die praktischen Versuche Hansens in seiner Brauerei bekehrt. Für die Geschichte dieser wichtigen Reform besitzen diejenigen Briefe, welche Jacobsen an seinen Mitarbeiter, Kühle, sandte, welcher sich damals im Auslande aufhielt, ein ganz besonderes Interesse. Ein Auszug dieser Briefe findet sich in der Jubiläumsschrift Gamle Carlsbergs (1897). Aus diesen Briefen erhellt, welch einen starken Eindruck die Entdeckungen Hansens auf Jacobsen gemacht hatten, obwohl er sich nicht sofort überzeugt fühlte, daß Hansens Ideen in der Praxis ausführbar seien. In dem folgenden Jahre sandte Jacobsen einen nicht weniger interessanten Brief an Fasbender, den damaligen Redakteur der „Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation" in Wien. Nach dem Tode Jacobsens wurde dieser Brief in der genannten Zeitschrift von Fasbender veröffentlicht, und zwar in dem Jahrgange 1887 auf S. 484. Jacobsen schrieb u. a. hierin wörtlich: . . . . „Aus der unreinen Hefe hat Dr. Hansen dann die echte S. cerevisiae ausgeschieden und aus einer dieser reinen Zellen nach und nach eine hinlängliche Menge Stellhefe für einen Gärbottich entwickelt, welche dann später weiter vermehrt, meine ganze Brauerei, in welcher immer 8800 Hektoliter Bier in den Gärbottichen steht, mit absolut reiner Stellhefe versorgt hat" . . . . „Gegen das allgemeine Ausarten der Stellhefe[1]) gibt es nur ein Mittel, nämlich reine Hefe zu produzieren, und dieses ist durch Hansens Methode möglich gemacht und die Erfahrung hat, wie oben mitgeteilt, die praktischen Erfolge davon dargetan" . . . . „Damit man überall die reine Saccharomyces cerevisiae als Stellhefe prüfen kann, habe ich zuerst meinen Freunden hier im Lande Portionen davon geliefert und jetzt habe ich auch solche einigen Freunden im Auslande gesandt, zuerst, wie es sich gebührt, meinem alten Lehrmeister Sedlmayr zum Spatenbräu" . . . .

Dieser Anschluß Jacobsens bekam selbstverständlich eine große Bedeutung für die Verbreitung des Reinzuchtsystems.

Jetzt sind die Ideen Hansens so allgemein anerkannt, daß die meisten kaum verstehen, welch große Anstrengungen gemacht werden mußten, um ihnen allgemeine Giltigkeit zu schaffen. Gamle Carlsberg gebührt die Ehre, die erste Brauerei zu sein, welche das Reinzuchtsystem Hansens einführte; am 12. November 1883 wurde in Gamle Carlsberg zum erstenmal eine reine Hefe als Stellhefe benutzt. Das Resultat war besonders günstig. Die hier angewandte Art hatte Hansen aus der daselbst benutzten gewöhnlichen Hefe isoliert.

Seitdem ist Hansens Prinzip über die ganze Welt verbreitet und in die verschiedenen Zweige der Gärungsindustrie aufgenommen worden. Außer der Brauerei hat die Weinfabrikation damit große Erfolge geerntet. Auch die medizinische Bakteriologie hat Nutzen aus der Forschung Hansens gezogen, was sich namentlich in den Studien zeigen wird, die in der neuesten Zeit über Krebs und damit verwandte Krankheiten angefangen worden sind.

Als Hansen seine praktischen Arbeiten in der Gärungsindustrie durchgeführt hatte, überreichte der Carlsberg-Fond ihm im Januar 1893 als Anerkennung eine größere Dotation; später sind noch mehrere dazu gekommen. Eine pekuniäre Ausbeute von seinen Entdeckungen hat er niemals gesucht.

Von den zahlreichen anderen Arbeiten Hansens, welche beinahe alle eine direkte Bedeutung für die Praxis gehabt haben, sollen hier seine Methoden zur Analyse der Brauereihefe genannt werden. Sie sind auf seine

---

[1]) Hiermit wird gemeint, was Hansen Infektion durch wilde Hefe nennt.

Untersuchungen über den Wert der verschiedenen Artcharaktere, besonders auf die Bedingungen der Sporenbildung der Hefepilze und auf das Verhalten der Arten, weinsauren Nährflüssigkeiten gegenüber, gegründet. Ferner ist hervorzuheben sein Verfahren zur biologischen Analyse des Wassers und der Luft in den Brauereien, zur Aufbewahrung der Hefe im lebenden Zustande, seine Untersuchungen über die Essigsäurebakterien und vor allem seine morphologischen und physiologischen Untersuchungen über Alkoholgärungspilze. In diesen Untersuchungen ist nicht nur von Saccharomyces die Rede, sondern zugleich von den anderen zahlreichen Arten, welche unter die genannte große physiologische Gruppe gehören, wie die Mucorineen, Oidium, Torula usw. Mehrere Grundlinien von allgemeinem biologischem Interesse wurden darin zum erstenmal gezogen. Neue Gesichtspunkte haben besonders die Untersuchungen über die verschiedenen Funktionen der genannten Organismen, über das Verhalten zwischen vegetativem Wuchs und Sporenbildung als gestaltgebenden Faktor geboten. Diese Untersuchungen gestatten einen Einblick in das Leben und die Entwicklung der genannten Organismen, welcher in wesentlichem Grade alles, was man darüber früher wußte, überragt; sie gehören zu den grundlegenden Forschungen in der modernen Mikrobiologie,

Es war aber nicht allein das Verhalten der Hefepilze im Laboratorium und im Betriebe, welches Hansen seinem Studium unterwarf, auch ihr Auftreten in der freien Natur wurde in seine Untersuchungen eingezogen. Berühmt ist z. B. seine Untersuchung über den Kreislauf des kleinen, zitronenförmigen Hefepilzes, Saccharomyces apiculatus, in der Natur, worin auch die Grundlinien für den Kreislauf der Saccharomyceten überhaupt gegeben werden, und seine Untersuchungen über die Mikroorganismen der Luft in den verschiedenen Jahreszeiten.

In den letzten Jahren hatte er hauptsächlich theoretische Untersuchungen angestellt, namentlich über die Variation der Hefepilze; diese Untersuchungen haben überall in der Wissenschaft die größte Aufmerksamkeit erregt, teils wegen des zugrunde liegenden, genial ausgedachten Planes, teils wegen ihrer Resultate. Hansen zeigte namentlich hier, wie man durch die Einwirkung bestimmter äußerer Faktoren tief eingreifende, dauerhafte Umbildungen hervorrufen kann. Es ist das erstemal, daß in dieser fundamentalen und in hohem Grade verwickelten Frage eine exakte Beweisführung gegeben wird. Diese Untersuchung über die Variation haben auch für die Praxis Bedeutung, indem Hansen Methoden angibt, durch welche die Arten dazu gebracht werden können, z. B. mehr oder weniger Alkohol zu bilden usw.

Auch andere Organismen als Hefepilze in engerem Sinne und Essigbakterien studierte Hansen. Bekannt sind ja seine Untersuchungen über verschiedene Schimmelpilze. Im ganzen genommen hat er alle diejenigen Organismen, welche als „Gärungsorganismen" in weiterem Sinne aufgefaßt werden können, und welche eine Rolle in der Gärungsindustrie spielen, in seinen Forschungskreis einbezogen. Zu verschiedenen Zeiten unternahm er auch Untersuchungen über die höheren Pilze, und zwar umfassende und eingehende Versuche mit den auf Mist lebenden Hutpilzen, welche er teils in dänischen, teils in deutschen Zeitschriften mitgeteilt hat. Seine wichtigsten Arbeiten auf diesem Gebiete sind: „Fungi fimicoli danici". Kopenhagen 1876 und „Biologische Untersuchungen über mistbewohnende Pilze" (Botanische Zeitung. 1897).

Will man in aller Kürze eine Übersicht über Hansens Arbeiten über Gärungsorganismen geben, welche in den Mitteilungen des Carlsberg-Laboratoriums (auf dänisch und französisch) veröffentlicht sind, so können sie in folgende Reihen geteilt werden:

1. Reihe: Organismen in Bier und Bierwürze.

1. Beiträge zur Kenntnis derjenigen Organismen, welche in Bier und Bierwürze vorkommen und leben können. 1879.

2. Reihe: Essigsäurebakterien.

1. Mycoderma aceti (Kütz.) Pasteur und Mycoderma Pasteurianum n. sp. 1879.
2. und 3. Untersuchungen über Essigsäurebakterien. 1894 und 1900.

3. Reihe: Die Mikroorganismen der Luft.

1. und 2. Untersuchungen über diejenigen Organismen, welche sich zu den verschiedenen Jahreszeiten in der Luft in und in der Nähe von Carlsberg finden und welche sich in Bierwürze entwickeln können. 1879 und 1882.

4. Reihe: Untersuchungen über die Physiologie und Morphologie der Alkoholgärungspilze.

1. Über Saccharomyces apiculatus und dessen Kreislauf in der freien Natur. 1881.
2. Über die Ascosporenbildung bei der Gattung Saccharomyces. 1883.
3. Über Pasteurs Torula. 1883.
4. Krankheiten im Biere, durch Alkoholgärungspilze hervorgerufen. 1883.
5. Methoden zur Herstellung von Reinkulturen von Saccharomyceten und ähnlichen Mikroorganismen. 1886.
6. Über die Hautbildung bei der Gattung Saccharomyces. 1886.
7. Über das Verhalten der Alkoholgärungspilze zu den Zuckerarten. 1888.
8. Über die Keimung der Sporen bei den Saccharomyceten. 1891.
9. Über die Lebensgrenze der Alkoholgärungspilze. 1898.
10. Über die Variation bei den Saccharomyceten. 1900.
11. Die Saccharomycesspore als Sporangium. 1902.
12. Eine vergleichende Untersuchung über die Bedingungen des vegetativen Wachstums und der Entwicklung der Fortpflanzungsorgane bei den Alkoholgärungspilzen. 1902.
13. Neue Studien über Brauerei-Unterhefen. 1908.

5. Reihe: Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie 1883, 1888 und 1892.

Die neuen ausführlicheren Ausgaben der letztgenannten Reihe wurden in deutscher Sprache in München und in englischer Sprache in London veröffentlicht.

Zu seinen wichtigsten Arbeiten der neueren Zeit gehören die folgenden in diesem Centralblatte:

1) Neue Untersuchungen über den Kreislauf der Hefen in der Natur. (Bd. 10. 1903.)

2) Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten. (Bd. 12. 1904.)

3) Über die Brutstätten der Alkoholgärungspilze oberhalb der Erde. (Bd. 14. 1905.)

4. und 5) Oberhefe und Unterhefe. Studien über Variation und Erblichkeit. (Bd. 15. 1905 und Bd. 18. 1907.)

In Verbindung mit Prof. Dr. Osc. Uhlworm war Hansen ferner seit 1899 Herausgeber dieses Centralblattes.

Im allgemeinen wird es als ein Hauptcharakter in der Hansenschen Forschung bezeichnet, daß sie sich stark begrenzt hat und in die Tiefe geht. Hiermit ist indes eigentlich nur die Hälfte gesagt, denn Hansen bewegte sich in der Regel in einem großen Kreis. So hatte er in seine Untersuchungen nach und nach Arten eingezogen, welche zu beinahe allen Abteilungen des großen Reiches der Pilze gehören, und in mehreren seiner Abhandlungen über Gärungsorganismen experimentierte er mit mehr als 40 von einander sehr verschiedenen Arten. Sein Arbeitsverfahren war dies, daß er eben mit dem mannigfaltigen begann, nach verschiedenen Seiten ausging, und daß er erst nachher seine Untersuchungen mehr und mehr begrenzte; zuletzt waren es nur einzelne Ideen, auf welche er sich warf und die er jahrelang mit leidenschaftlicher Kraft verfolgte und mehr und mehr ergründete, ohne den Schwierigkeiten auszuweichen. In seinen Arbeiten über die Gärungsorganismen sind es besonders die Probleme in betreff der Temperatur, in den Arbeiten über die Hutpilze diejenigen in betreff des Lichtes, über welche er seine Experimente immer und immer wieder von verschiedenen Seiten anstellte. Sobald er bis zu einem gewissen Punkt gelangt war, ging er wieder über den engeren Kreis hinaus, indem er die gefundenen Resultate auf eine größere Anzahl Arten prüfte und die Grenzlinien zog, und sehr oft gab dies dann die Veranlassung zu neuen und noch schwierigeren Untersuchungen als die vorhergehenden. Ein anderes wichtiges Charakteristikum der Hansenschen Forschung liegt darin, daß Entwicklungsgeschichte und Biologie eine ebenso große Rolle wie die Experimentalphysiologie spielen, was dem ganzen eine besondere Farbe verleiht.

Daß Hansen im Laufe der verflossenen Jahre auf seinem Wege vielem Widerstand begegnete und viele Kämpfe durchzukämpfen hatte, ist nicht anders, als was jeder Wissenschaftler seines Ranges hat leiden müssen. Sein unbeugsamer Wille, seine Überzeugung davon, daß das Wahre zur Anerkennung kommt, führten ihn siegreich durch die Kämpfe. Doch Lichtpunkte fanden sich auch und viele Ehrenzeichen wurden ihm zuteil. Im folgenden sind sie chronologisch geordnet:

1886. Nach dem Vorschlage Pasteurs die goldene Medaille von „La Société d'encouragement pour l'industrie nationale“ in Paris.
1886. Ehrenmitglied des schwedischen Brauereivereins.
1887. Ehrenmitglied der „Wissenschaftlichen Station für Brauerei“ in München.
1887. Mitglied der Caesar-Leopoldinischen Akademie in Halle.
1888. Ehrenmitglied von „The Laboratory Club“ in London.
1888. Ehrenmitglied des „Brauindustrievereins für das Königreich Böhmen“ in Prag.
1888. Mitglied von „The Botanical Society of Edinburgh“.
1889. Ritter von Dannebroge.
1889. Ehrenmitglied der „Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei“ in Berlin.
1890. Ehrenmitglied von „Association Scientifique des Anciens Élèves de l'École Professionelle et de l'Institut Supérieur de Brasserie de Gand“.
1890. Mitglied der königlichen dänischen Gesellschaft der Wissenschaften zu Kopenhagen.
1891. Ehrenmitglied von „The North of England Institute of Technical Brewing“.
1892. Professor.
1892. Ritter des italienischen Kronenordens.
1892. Mitglied der Gesellschaft der Wissenschaften in Kristiania.
1893. Ehrenmitglied von „The Yorkshire Institute of Brewing“ in Leeds.
1893. Ehrenmitglied der böhmischen Gesellschaft für chemische Industrie.

1894. Ritter des norwegischen St. Olafs-Ordens.

1895. Korrespondierendes Mitglied der „Reale Società Italiana d'Igiene".

1895. Mitglied der königlichen schwedischen Landwirtschafts-Akademie in Stockholm.

1898. Mitglied der königlichen Gesellschaft der Wissenschaften in Uppsala.

1899. Mitglied der „Linnean Society" in London.

1901. Ehrenmitglied der „Deutschen Botanischen Gesellschaft" in Berlin.

1902. Anläßlich seines 25jährigen Jubiläums eine durch internationale Subskription hergestellte goldene Medaille.

Bei der Überreichung dieser Medaille wurde die folgende Adresse gelesen:

„Fünfundzwanzig Jahre sind heute verflossen, seitdem Sie, Herr Professor, Ihre Forschung in den Carlsberger Brauereien und in der physiologischen Abteilung des Carlsberger Laboratoriums begonnen. Ihre Verdienste sind gekannt und geschätzt, nicht nur in Ihrem Vaterlande, sondern auch weit außerhalb dessen Grenzen. Ihre Arbeiten haben einen großartigen Fortschritt in der Biologie der Gärungsorganismen hervorgerufen, und Ihre Lehre von der Anwendung reingezüchteter, planmäßig ausgewählter Heferassen und -arten in der Gärungsindustrie hat eine epochemachende Reform herbeigebracht.

Wir Unterzeichneten sind zusammengetreten, um heute Ihnen eine goldene Medaille als Ehrengeschenk und als Anerkennung Ihrer genialen und bahnbrechenden Forschung in den verflossenen 25 Jahren zu überreichen".

Die Namen der 63 Einlader folgten danach und dann das Verzeichnis der Beitragenden, im ganzen ca. 500, außer mehreren großen Vereinen.

1902. Ehrenmitglied des „Deutschen Brauerbundes".

1902. Die große goldene Ehrendenkmünze von der „Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei" in Berlin.

1903. Mitglied der königlichen physiographischen Gesellschaft in Lund.

1903. Ehrenmitglied der böhmischen Kaiser Franz-Joseph-Akademie in Prag.

1904. Ehrenmitglied des finnischen Brauereiindustrievereins in Helsingfors.

1905. Ehrenmitglied von „The Society for the Encouragement of Arts, Manufactures and Commerce" in London.

1907. Doctor medicinae honoris causa an der Universität Uppsala.

1907. Einer der Großindustriellen Scotlands stiftet eine Hansen-Medaille, welche jährlich den zwei tüchtigsten Schülern an der Abteilung für technische Mykologie an der „Heriot-Watt College" in Edinburgh überreicht wird.

1908. Kommandeur von Dannebroge.

1908. Doctor technices honoris causa an der k. k. technischen Hochschule in Wien.

1908. Ehrenmitglied der schwedischen Ärztegesellschaft.

1908. Für das zweite Mal die große goldene Ehrendenkmünze von der „Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei" in Berlin.

1908. Ehrenmitglied des dänischen Brauervereins.

1909. Docteur ès sciences naturelles honoris causa an der Universität Genève.

Hansen war in allen Verhältnissen des Lebens der Wissenschaftler; alle die einfachen täglichen Ereignisse betrachtete er mit dem Auge des Wissenschaftlers. Sein Wesen bekam deshalb ein ernstes Gepräge, obwohl es in der Wirklichkeit ein sehr liebenswürdiges war. Er war sehr gerecht und überaus wohltätig; hiervon sprach er aber niemals, seine Wohltätigkeit wurde im Stillen ausgeübt. Von der Jugend an viel Unglück und Kampf gewöhnt, wurde er im Laufe der Jahre etwas bitter und konnte bisweilen die Dinge etwas zu schwarz ansehen. Seine größte Freude war, seine Arbeit anerkannt zu sehen, weshalb er auch in hohem Grade seine Ehrenbezeichnungen hochschätzte.

Er sprach immer von sich selbst als von dem einsamen Manne, welcher nur im Stillen für seine Wissenschaft lebte. Sein Tod war ein einsamer; von seiner sehr kranken Frau und seinem damals im Auslande weilenden Sohn getrennt, starb er auf einem Sanatorium in der kleinen Stadt Hornbok in Nord-Seeland.

Mit Emil Christian Hansen hat die Gärungswissenschaft und die Gärungsindustrie einen ihrer größten Wissenschaftler verloren.

Nachdruck verboten.

Über das Vorkommen von gefärbten, makroskopischen Bakterienkolonien in Emmentalerkäsen.

[Arbeit aus der schweiz. milchw. und bakt. Anstalt Bern-Liebefeld.
Vorstand: Prof. Dr. R. Burri.]

Von **Dr. J. Thöni** und **Dr. O. Allemann.**

Mit 1 Tafel.

Unserem Auge erscheint die Schnittfläche eines normalen Emmentalerkäses durchgehend von gleicher Farbe. Von den Millionen von Spaltpilzen, die sich im Gramm Käse aufhalten, ist nichts zu bemerken. Wohl aus diesem Grunde wurde früher vielfach angenommen, daß die Verteilung der Bakterien eine gleichmäßige sei, eine Ansicht, die dann in der Folge nicht mehr aufrecht erhalten werden konnte. Eine erste gegenteilige Äußerung über das Vorkommen von Bakterien im Käse findet sich in einer Arbeit von R. Burri (1) vom Jahre 1898, wo über die Ursache der Unsichtbarkeit der Bakterienkolonien im normalen Käse folgendes angeführt wird: „Gegenseitige Hinderung in der Entwicklung ist überall zu beobachten, wo zahlreiche Keime in festem Substrate gezwungen sind, in verhältnismäßig kleinem Raume ihre Tätigkeit zu entfalten. Aus diesem Grunde kommt es bei ungenügender Verdünnung des Impfmaterials nur zu einer Trübung der gebräuchlichen, durchsichtigen, festen Nährböden, also nur zur Entwicklung mikroskopisch kleiner Kolonien. Dieselben Verhältnisse werden normalerweise im Käse obwalten.“ Später haben dann Gerda Troili-Petersson (2), C. Gorini (3) und A. Rodella (4) mittels einer besonderen Schnitt- und Färbungstechnik bei verschiedenen Käsesorten die Richtigkeit der Ansicht von Burri bewiesen.

Daß es anderseits vorkommen kann, daß Bakterienkolonien schon von bloßem Auge im Käse sichtbar sind, ist ebenfalls zuerst von R. Burri (l. c.) gezeigt worden. Auf der Schnittfläche eines Emmentalerkäses beobachtete er dunkelfarbige Punkte und konnte als Verursacher dieser eine in die Gruppe des Bact. Güntheri (Bact. lactis acidi) gehörende

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Art feststellen. Über das Auftreten dieses Farbenfehlers wird angeführt: „Die Punkte waren unregelmäßig zerstreut, so daß manchmal ein ganzer Kubikcentimeter keinen einzigen enthielt, ein anderer hingegen mehrere. Ein Zusammenhang der Lage der Punkte und der Augen der Käseprobe war nicht zu erkennen. Hingegen konnte ich nachträglich in Erfahrung bringen, daß in der Mitte der betreffenden Käse die Punkte kaum sichtbar waren oder fehlten, während die sogenannte Järbseite die Erscheinung besonders deutlich zeigte. Die Farbe der Punkte war bei näherem Zusehen dunkelbräunlichgrau; der Durchmesser betrug ungefähr ½ mm. Die kugeligen Gebilde waren von einem blassen, schmutzigbraunen Hof umgeben.“

In neuerer Zeit scheint, wie wiederholte Einsendungen an unsere Anstalt beweisen, eher eine Zunahme solcher auf bakteriellen Ursprung zurückzuführender Farbenfehler in Emmentalerkäsen stattzufinden. Dabei handelt es sich, wie im folgenden gezeigt werden soll, nicht immer nur um das Auftreten von schwarzen Punkten, sondern es sind auch bräunliche und rote Verfärbungen zu konstatieren. In der Mehrzahl der Fälle standen uns leider zur Untersuchung derartiger fehlerhafter Käse nur die eingesandten Käseproben zur Verfügung, so daß eine weitere Prüfung über die Herkunft und die Ursache des Vorkommens der Schädlinge nicht möglich war.

Das gesammelte Untersuchungsmaterial werden wir, je nach der Farbe der Flecken, in 3 Abschnitten besprechen.

A. Vorkommen von schwarzen Punkten.

Fall 1.

Aus der Westschweiz wurde uns im August 1905 von einem Käser ein Stück ausgereifter Emmentalerkäse übermittelt mit der Mitteilung, daß eine größere Anzahl Sommerkäse, wie die vorliegende Probe, unter der Rinde eine eigentümliche dunkle Verfärbung zeigen. Ausgenommen die Fleckenbildung, seien die Käse sonst vollkommen normal. Bei näherer Betrachtung der frischen Schnittfläche der Probe waren rundliche, schmutziggraue bis schwarze Punkte zu sehen, die unregelmäßig zerstreut von der Rinde weg bis ungefähr zu einer Tiefe von 3 cm eindrangen. Der Durchmesser der Punkte betrug ¼—1 mm und es konnten pro cm^2 bis 12 gezählt werden. Gegen die sogenannte Järbseite hin waren die Punkte zahlreicher vertreten als unter den Blattseiten.

Das Auftreten der dunkelfarbigen Punkte weist mit dem von R. Burri (l. c.) näher untersuchten Falle große Übereinstimmung auf. Durch die mikroskopische Prüfung konnte auch hier ohne weiteres festgestellt werden, daß die Punkte Bakterienkolonien darstellten. Brachte man mit der Nadel Material von den schwarzen Punkten in ein Tröpfchen keimfreies Wasser und beobachtete dieses unter dem Mikroskop, so konnte man sich überzeugen, daß es unzählige Bakterien enthielt. Bei der weiteren mikroskopischen Prüfung verschiedener derartiger Kolonien des Käses erhielt man den Eindruck, daß sämtliche Kolonien der gleichen Bakterienart angehören. Diese Bakterie war ein unregelmäßiges, kurzes, an den Enden bald abgerundetes, bald zugespitztes Stäbchen von ziemlich variablen Dimensionen, dabei unbeweglich und sporenlos.

Die Reinzüchtung dieses die schwarzen Punkte verursachenden Spaltpilzes bot wenig Schwierigkeiten, indem bei sorgfältiger Entnahme von schwarzem Material aus den Flecken und Einsaat in einen entsprechenden Nährboden nur etwa die erste Verdünnung Verunreinigungen aufwies, die weiteren dagegen Reinkulturen darstellten. Wir haben über das morphologische und biologische Verhalten des vorliegenden Organismus folgendes festgestellt.

a) Mikroskopischer Befund.

Wie in den Kolonien des Käses, so zeigt das Bacterium auch auf den künstlichen Nährböden eine sehr unregelmäßige Form. Neben ovalen, an den Enden zugespitzten, an Bact. Güntheri erinnernden Zellen finden sich kegel- und keulenförmige, isodiametrische, ferner gebogene, sowie auch rundliche Individuen vor. Auch die Größe der Zellen schwankt nicht unbedeutend. Wir notierten folgende Maße:

1,2—2,2 × 1,2—1,8 μ (auf Gelatinekulturen)
1,8—2,5 × 0,6—1,2 μ (auf Peptonschottenagar).

Gewöhnlich treten sie einzeln auf, selten zu zweien.

b) Kulturelles Verhalten.

In Peptonschottenagarschüttelkulturen bei 30° C erscheinen die Kolonien schon nach kurzer Zeit als kleine Pünktchen, die nach 4 Tagen eine Größe von 1—2 mm im Durchmesser erreichen. Sie sind glattrandige, rundliche, in der Mitte verdickte Scheibchen von weißlicher Farbe. Stark besäte Stellen des Nährbodens sind nach dieser Zeit vollkommen getrübt. Ein Überschreiten des Koloniendurchmessers von 1—2 mm findet nicht statt.

Die Plattenkulturen, die mit gewöhnlicher Gelatine und Schottenagar ausgeführt wurden, wiesen eine sehr langsame Entwicklung auf. So konnte man auf den Gelatineplatten erst nach 4—5 Tagen mikroskopisch kleine Kolonien beobachten. Nach 8 Tagen erreichten sie eine Größe von $^1/_5$—$^1/_3$ mm im Durchmesser. Ihre Form ist rundlich, die Farbe weißlich. Ein Unterschied zwischen Oberflächen- und Tiefenkolonien ist nicht zu beobachten. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die Kolonien als schwärzliche, glattrandige, kreisrunde Scheibchen von körniger Struktur. Verflüssigung der Gelatine findet nicht statt. Auf Agar können bei 30° C schon nach 2 Tagen kleine Pünktchen beobachtet werden. Nach 9 Tagen sind sie nicht wesentlich größer geworden. Sie besitzen nach dieser Zeit einen Durchmesser von $^1/_5$—$^1/_4$ mm und sind kreisrund.

In der Stichkultur, die in Schottenagar angelegt wurde, ist gleichmäßiges kräftiges Wachstum im ganzen Stich. Es bildet sich keine Auflagerung. Kurze Zeit nach dem Sichtbarwerden des Kulturfadens tritt schwache Trübung des Nährbodens auf, die später so intensiv werden kann, daß von der im Stichkanal gewachsenen Kultur nichts mehr zu sehen ist.

Auf Kartoffeln ist kein eigentliches Wachstum zu beobachten.

In Milchzuckerbouillon ist die Entwicklung eine langsame. Bei 35° C trübt sich die Bouillon nach 3 Tagen, und am Boden setzt sich ein weißliches Sediment ab. Der Nährboden wird sauer.

Sterile Milch wird erst nach längerer Zeit zur Gerinnung gebracht. Bei 35° C tritt die Gerinnung nach 4—5 Wochen ein, während bei 20° fast die doppelte Zeit dazu in Anspruch genommen wird. Das Koagulum besitzt eine weiche, breiige Konsistenz und reagiert sauer.

Fall 2.

Ebenfalls im August 1905 ist uns ein weiteres Stück Emmentalerkäse, diesmal aus der Zentralschweiz stammend, überbracht worden. Es zeigte unter der Rinde eine dunkle Zone, die sich deutlich von dem die normale

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Farbe besitzenden Käseinneren abhob. Bei genauerem Zusehen fanden sich auch hier schwarze Punkte auf der frischen Schnittfläche. Die Punkte traten von der Rinde nach innen gehend bis zu einer Tiefe von ca. 1½ cm auf. Sie waren rundlich, unregelmäßig zerstreut und besaßen kaum eine Größe von ¼—½ mm im Durchmesser.

Die mikroskopische Prüfung ergab wieder, wie bei Fall 1, ein in Form und Größe sehr unregelmäßiges, unbewegliches Kurzstäbchen. Neben Zellen, die für ein Bact. Güntheri zu halten waren, konnten kegelförmige, auch bakteroidenähnliche Formen beobachtet werden. Die Isolierung und Reinzüchtung des in Frage stehenden Mikroorganismus gelang sehr leicht. Über dessen morphologisches und biologisches Verhalten stellten wir folgendes fest.

a) Mikroskopischer Befund.

Auch auf den künstlichen Nährböden kommt die erwähnte Unregelmäßigkeit in Größe und Form der Individuen bis zu einem gewissen Grade zur Geltung, wobei konstatiert werden konnte, daß hier im allgemeinen die Länge etwas abnimmt und die Zellen breiter erscheinen. Besonders deutlich war diese Erscheinung bei den auf Gelatine gewachsenen Organismen zu beobachten, indem hier öfters kokkenähnliche Formen angetroffen wurden.

Größe der Zellen von Gelatinekulturen: 1,2—2,5×1,2 μ,
„ „ „ „ Schottenagarschüttelkulturen: 1,0—1,4×0,6 μ.
Zellen häufig zu zweien und mit Spitzchen an den Enden.

b) Kulturelles Verhalten.

In Schottenagarschüttelkulturen bei 30° C sind nach kurzer Zeit Pünktchen sichtbar, die nach 4 Tagen eine Größe von 1—2 mm im Durchmesser erreichen. Sie erscheinen als bräunliche, runde, glattrandige, in der Mitte verdickte Scheibchen. Nach 3—4 Tagen trübt sich der Nährboden. An der Oberfläche tritt kein Wachstum auf.

Auf den Plattenkulturen (Peptonschottenagar und Nährgelatine) ist die Entwicklung eine sehr langsame. Auf Gelatine können erst nach 7—8 Tagen kleine Pünktchen gesehen werden. Nach 13 Tagen besitzen sie eine Größe von kaum ¼—⅓ mm im Durchmesser. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen sie als kreisrunde, glattrandige, in der Mitte schwärzliche, an der Peripherie gräuliche Scheibchen von körniger Struktur. Ein Unterschied zwischen Oberflächen- und Tiefenkolonien kann nicht beobachtet werden. Verflüssigung fehlt. Auf Peptonschottenagar bei 30° C sind schon nach 2 Tagen Kolonien sichtbar, die nach 9 Tagen kaum größer geworden sind. Ihr Durchmesser beträgt $^1/_5$—¼ mm. Sie erscheinen auch hier als glattrandige, runde Scheibchen ohne besondere Struktureigentümlichkeiten.

In den Schottenagarstichkulturen bei 37° C ist nach 2 Tagen bandförmiges Wachstum ohne Auflagerung; im unteren Teil der Stichkultur zeigt der Nährboden bereits schwache Trübung. Nach 4 Tagen ist die Kultur kräftig entwickelt, und die Trübung dem ganzen Stichkanal entlang eine intensive.

Auf Kartoffeln ist kein Wachstum zu beobachten.

In sterile Milch eingesät tritt bei 35° C nach 4 Wochen Gerinnung ein, bei 20° C erst nach 7 Wochen. Reaktion sauer.

Fall 3.

Von einer Käserei aus dem bernischen Mittellande wurde uns im Januar 1908 ein Stück Emmentalerkäse zur Untersuchung eingesandt. Dieser Käse zeigte auf der frischen Schnittfläche eine deutliche dunkle Verfärbung der Randzone bis zu 2—3 cm Tiefe, die dem Käse ein zum Genusse wenig einladendes Aussehen verlieh. Schon von bloßem Auge waren schwarze bis dunkelbraune Punkte zu erkennen, die sich bei der mikroskopischen Untersuchung als Bakterienkolonien erwiesen und aus Güntheri ähnlichen Organismen bestanden.

Im Innern der Käsemasse waren, im Gegensatz zu den früheren Fällen, ebenfalls vereinzelte Punkte von mehr rostgelber Farbe sichtbar. Auch hier konnten Bakterienkolonien konstatiert werden. Die Organismen waren jedoch von denen der schwarzen Punkte verschieden; sie zeigten mehr die Form einfacher Kurzstäbchen. In den äußeren Partien der Käsemasse waren Bakterien dieser Art nicht mehr anzutreffen; ihr Wachstum ist daher mehr anaërob. Bezüglich dieser rostgelben Punkte sei auf Fall 6 verwiesen, woselbst das biologische und morphologische Verhalten beschrieben ist.

Wie wir in Erfahrung bringen konnten, entstammt diese Probe einer größeren Partie Käse, welche als Primaware verkauft worden waren. Es muß daher angenommen werden, daß die abnormale Verfärbung erst im Lagerkeller des Großhändlers sich eingestellt hat; in der Tat wiesen Käse der gleichen Serie, die im Keller der Käserei gelagert wurden, ebenfalls die Mißfärbung auf. Nach diesen Umständen darf geschlossen werden, daß der betr. Organismus die Schwarzfärbung erst im ausgereiften Käse zustande brachte.

Besonders bemerkenswert war der Teig des Käses. Im Bereiche der schwarzen Flecken hatte er seine elastische und geschmeidige Beschaffenheit, wie sie das Innere noch aufwies, verloren, und war bröcklig geworden. In der Lochung dagegen zeigte der Käse nichts abnormales.

Über das Verhalten des Erregers der schwarzen Punkte machten wir folgende Ermittlungen:

a) Mikroskopischer Befund.

Der Organismus bildet kurze, häufig zu zweien vereinigte, unbewegliche und sporenlose Kurzstäbchen. Seine Größe variiert zwischen 0,5—1,0 μ Breite und 1,2—2,0 μ Länge. Involutionsformen waren keine zu beobachten, weder in den gefärbten Ausstrichpräparaten aus Käse, noch in denjenigen aus den Kulturen.

b) Kulturelles Verhalten.

In Peptonschottenagarschüttelkulturen, die bei 30° C. aufgestellt waren, zeigten sich schon nach 2-tägigem Stehen kleine, glattrandige, scheibchenförmige Kolonien von ½—1 mm Durchmesser; nach 5 Tagen hatten sie einen Durchmesser von 1—2 mm erreicht. Das üppige Wachstum war begleitet von einer intensiven Trübung des Nährbodens. Später zeigten auch einzelne Kolonien einen Trübungshof.

Die Kulturen auf Gelatineplatten ließen erst nach einer Woche ein nennenswertes Wachstum erkennen. Es zeigten sich kleine, glattrandige und kreisrunde Scheibchen von weißlichem Aussehen; Verflüssigung der Gelatine war nicht zu beobachten.

Milchzuckerbouillon bei 30° C wurde schon nach 2-tägigem Stehen diffus getrübt. In gewöhnlicher Peptonbouillon und Calciumlaktatbouillon war kein Wachstum zu konstatieren.

Eine Stichkultur in Peptonschottenagar angelegt, zeigt ein gleichmäßiges, kräftiges, durch den ganzen Stichkanal verlaufendes Wachstum ohne Oberflächenbelag. Mit fortschreitendem Wachstum findet allmähliche Trübung des Nährbodens statt.

Auf Kartoffeln bei 30° C fehlt das Wachstum.

Sterile Milch wird von dem Organismus erst nach mehrwöchentlichem Aufenthalt bei 30° C zur Gerinnung gebracht. Das Gerinnsel ist von homogener breiiger Konsistenz.

Fall 4.

Ein interessantes Objekt bot sich uns in einem 7 Monate alten Käse dar, welcher mit Kunstlab hergestellt worden war. Dieser Käse wies gleichfalls auf der frischen Schnittfläche von bloßem Auge sichtbare, schwarze Punkte von ¼—½ mm Durchmesser auf, nur waren diese, mit Ausnahme einer ca. 10 cm breiten Zone der Järbseite, durch den ganzen Käse verteilt, wie die Fig. auf beigefügter Tafel zeigt. Der Käseteig war, mit Ausnahme der punktfreien Zone, durchgehend schwärzlich gefärbt und stark verändert, von bröckliger Konsistenz und in Geruch und Geschmack unrein. In bezug auf die Lochung kann als fehlerhaft einzig die Inkrustation der Augen mit Salzsteinen angesprochen werden. Die Salzsteine bestehen nach Steinegger (5) hauptsächlich aus Leucin, Lysin und Tyrosin. Sie sind jedenfalls eine Folge der Überreife.

Über die Natur der schwarzen Punkte läßt sich, nach dem in den früheren Fällen Ausgeführten, nicht viel neues berichten. Es konnte auch hier ermittelt werden, daß diese Punkte ausschließlich aus Bakterienleibern eines Guntheri ähnlichen, kurzen, plumpen, sporenlosen und unbeweglichen Doppelstäbchens bestanden. Unregelmäßige Formen konnten in den gefärbten Ausstrichen keine beobachtet werden.

Die Isolierung und Reinzüchtung dieses Spaltpilzes verursachte keine große Mühe, indem bei vorsichtiger Abimpfung einiger schwarzer Punkte und Einsaat in die bekannten Nährböden leicht eine Reinkultur erhalten werden konnte.

Im Folgenden sei das Verhalten des Organismus auf den künstlichen Nährböden kurz geschildert.

a) Mikroskopischer Befund.

Die Organismen stellen unbewegliche, sporenlose Doppelstäbchen von 1—2 μ Länge und bis 1 μ Breite dar. Sie sind mittels der gewöhnlichen Anilinfarben und nach Gram leicht färbbar.

b) Kulturelles Verhalten.

Eine Peptonschottenagarschüttelkultur bei 30° C zeigt schon nach 2 Tagen Wachstum und zwar in Form von kleinen, glattrandigen, weißlichen Scheibchen von ½—1 mm Durchmesser. Das Wachstum ist sehr kräftig und von starker Trübung des Nährbodens begleitet.

Die Gelatineplattenkulturen, bei 20° C aufgestellt, ließen erst nach mehreren Tagen Wachstum erkennen; die kleinen punktförmigen Kolonien erreichten nach 14 Tagen eine Größe von ¼—½ mm Durchmesser. Sie sind rundlich, weißlich und zeigen keine Verflüssigung der Gelatine.

In Milchzuckerbouillon bei 30° C ist nach 2 Tagen eine starke Trübung eingetreten, und am Boden hat sich ein weißes Sediment abgesetzt. Die Reaktion der Flüssigkeit ist stark sauer. Gewöhnliche Bouillon scheint kein günstiges Nährmedium zu sein, indem sich hier nur eine kaum merkliche Trübung einstellte. Calciumlaktatbouillon wird ebenfalls nicht angegriffen.

Stichkulturen in Peptonschottenagar weisen sehr gleichmäßiges Wachstum auf, begleitet von intensiver Trübung des Nährbodens, ohne Oberflächenbelag.

Auf Kartoffeln (30° C) ist die Entwicklung eine äußerst spärliche, aus vereinzelten weißlich-grauen Pünktchen bestehend.

Käseextraktbouillon bei 30° C wird schon nach kurzer Zeit intensiv getrübt, aber ohne Farbstoffbildung.

Sterile Milch gerinnt bei 30° C nach 12 Tagen, bei 35° C nach 7—8 Tagen und bei 20° C erst nach 20 Tagen. Das Koagulum ist gleichmäßig gallertig.

Parakasein zeigt keine wahrnehmbare Zersetzung; ferner bleibt auch hier die Schwarzfärbung aus.

Aus den vorliegenden Untersuchungen geht hervor, daß als Erreger der schwarzen Punkte in Emmentalerkäse Vertreter aus der Gruppe des Bact. Güntheri (Bact. lactis acidi Leichm.) ermittelt wurden. Soweit unsere Beobachtungen reichen, treten diese schwarzen Flecken erst im vorgerückten Reifestadium auf. Dieser Umstand, sowie auch die Tatsache, daß die aus den Käsekolonien isolierten Organismen auf künstlichen Nährböden keine Verfärbung zeigen, trotzdem ihnen hier möglichst ähnliche Verhältnisse wie im Käse geboten wurden, lassen vermuten, daß es sich hierbei um einen rein chemischen Prozeß handelt. Diese Vermutung wird dadurch bekräftigt, daß kleine nach Emmentalerart hergestellte Käschen (aus je 14 l Vollmilch), die mit den Erregern der schwarzen Punkte geimpft waren, die fragliche Erscheinung nicht aufwiesen. Auch ergab die Prüfung auf Metallsulfide (Eisen und Kupfer) stets ein negatives Resultat, d. h. die Menge des Eisens war in keinem Falle größer als bei normalen Käsen. Emmentalerkäse (40—50 kg schwer), die aus mit Eisenlaktat versetzter Milch hergestellt worden waren, wiesen gleichfalls keine Schwarzfärbung auf. Die beiden Momente: Auftreten der schwarzen Punkte in ausgereiftem Käse und Ausbleiben dieser bei sehr kleinen Käsen, deren Reifungsgrad stets geringer ist als der großer Käse, machen es wahrscheinlich, daß zum Zustandekommen von schwarzen Güntherikolonien der Reifungsprozeß sehr weit vorgeschritten sein muß. Bei der Reifung werden jedenfalls Umsetzungsprodukte gebildet, die eine Schwarzfärbung der sauren Güntherikolonien bedingen. Über die Natur dieser Produkte konnten wir bis jetzt nichts näheres ermitteln; möglicherweise handelt es sich um melaninähnliche Substanzen, wie solche stets bei tiefgreifenden Eiweißspaltungen beobachtet werden.

B. Vorkommen von braunen Punkten.

Fall 5.

Ein Käser der Nordostschweiz machte uns die Mitteilung, daß seine Winterkäse sog. „blattrige“ Löcher aufweisen. Dieser Fehler äußert sich in der Weise ,daß die Löcher oder Augen der Käse meistens glänzend sind und unregelmäßige Erhabenheiten (Höcker) zeigen. Die Ursachen des Auftretens der „blattrigen“ Löcher sind bis jetzt noch nicht sicher aufgeklärt. Zur weiteren Untersuchung des genannten Käsefehlers übersandte uns der Betreffende eine Probe Lab, eine Probe Sauer (Molkenessig) und 2 Käseböhrlinge. Der eine der Käseböhrlinge besaß 5 Löcher und zeigte den Fehler sehr ausgesprochen, während der andere nur 3 Löcher aufwies, die nur schwache Erhabenheiten besaßen. Bei näherem Betrachten der beiden Käsestückchen fiel zudem auf, daß im Käseteig braune, rundliche Punkte auftraten, die, unregelmäßig zerstreut, sowohl in den Löchern, wie im übrigen Teig auf der ganzen Länge der Böhrlinge zu sehen waren, also bis ganz in das Innere des Käses reichten. Auf dem cm ^{2} konnten durchschnittlich 3—4 Punkte gezählt werden, welche einen Durchmesser von ca. ½ mm besaßen.

Bei der mikroskopischen Prüfung der braunen Flecken zeigte es sich, daß auch sie Bakterienkolonien darstellten, die gebildet wurden von sehr dünnen unbeweglichen Stäbchen. Im hängenden Tropfen gemessen, wurde eine Größe von 0,2 μ Breite und 1,8—2 μ Länge festgestellt.

Die Isolierung des Erregers der braunen Punkte gelang mittelst Schottenagarschüttelkulturen leicht. Dabei fiel aber auf, daß hier nicht die gleichen Organismen vorliegen konnten, wie bei den schwarzen Punkten, indem die Aussaaten in Molkengelatineplatten steril blieben und das Wachstum der Schottenagarschüttelkulturen ein bedeutend langsameres war, als bei den Güntheriformen.

Die Untersuchung des Käseteiges selbst ergab ebenfalls interessante Resultate. Es gelang, aus den Kulturen, die mit Käseemulsion beschickt waren, die Erreger der braunen Punkte zu isolieren. Außer diesen konnten im Käse nur die gewöhnlichen Milchsäurebakterien angetroffen werden. Diese beiden Bakterientypen waren ungefähr in gleicher Anzahl vertreten. Daraus war zunächst zu schließen, daß die Erreger der Braunfärbung in großer Zahl im Käse anwesend waren, ferner wurde dadurch der Gedanke nahe gelegt, es könnten dieselben auch den weiteren Käsefehler, die Höckerbildung in den Wandungen der Löcher, verursacht haben. Letztere Annahme ist dann durch später vorgenommene Untersuchungen sehr wahrscheinlich gemacht worden. In den Proben von Lab und Sauer fanden sich nur die gewöhnlichen Bewohner dieser Medien vor.

Über den die braunen Punkte bildenden Organismus machten wir folgende Feststellungen:

a) Mikroskopischer Befund.

Unbewegliches, sporenloses Kurzstäbchen, das in den Kolonien des Käses eine Größe von 1,8—2,0×0,2 μ besaß, auf den künstlichen Nährböden aber dicker und kürzer auftritt. Es wurden hier folgende Maße ermittelt:

Nährboden:	Länge:	Breite:
Schottenagar (Schüttelkulturen)	1,0—1,8 μ	0,4—0,6 μ
Kartoffel	0,7—0,9 μ	0,3—0,4 μ

In Oberflächenkulturen, bei Luftzutritt, sind stets zahlreiche Involutionsformen zu beobachten. So weisen z. B. die auf Kartoffeln gewachsenen Organismen keulenförmige, klostridienförmige, auch auffällig lange Formen (bis zu 2,6 μ) neben normalen auf.

Mit den gewöhnlichen Anilinfarben und nach Gram färbt sich unser Organismus nur mäßig.

b) Kulturelles Verhalten.

Peptonschottenagarplatten bei 30° C. Erst nach 5 Tagen sind mikroskopisch kleine Pünktchen sichtbar, von denen nur vereinzelte später zu größeren Kolonien auswachsen. Diese großen Kolonien erreichen nach 7 Tagen 1—2 mm im Durchmesser. Sie sind braune, glattrandige, runde, in der Mitte verdickte Scheibchen. Alle sind anfänglich Tiefenkolonien, die nur durch das Wachstum in der Tiefe allmählich an die Oberfläche gedrängt werden und sich hier schwach ausbreiten. Die Großzahl der Kolonien erreicht nur die Größe von $^1/_5$—⅓ mm im Durchmesser.

Molkengelatineplatten bei 20° C. Kein Wachstum.

Peptonschottenagarstich bei 30° C. Sehr kräftiges bandförmiges Wachstum im Stichkanal. An der Oberfläche bildet sich, um die Einstichöffnung, eine rundliche, höckerförmige, saftig glänzende Auflagerung von grauer Farbe, Der Nährboden wird nur wenig getrübt.

Molkengelatinestich bei 20—22° C. Anfänglich ist das Wachstum als feiner Streifen im Stichkanal sichtbar ,der nach und nach sehr kräftig wird und bis 2 mm im Durchmesser erreichen kann. Um die Einstichöffnung bildet sich ebenfalls eine höckerförmige Auflagerung. Die Farbe der Kultur ist gelblich-braun.

Peptonschottenagarschüttelkulturen bei 30° C. Nach 3—4 Tagen sind kleine Pünktchen sichtbar, die nach 5 Tagen, bei nicht zu dicht stehenden Kolonien, eine Größe von 1½—2 mm erreichen. Die Kolonien sind glattrandige, linsenförmige Scheibchen, die im auffallenden Lichte weißlich, bei durchfallendem Licht braun erscheinen. Stehen die Kolonien sehr dicht, so ist jeweils schwache Gasbildung zu beobachten, die sich durch Heben des Agarzylinders oder auch durch vereinzelte Gasblasen bemerkbar macht. Das Wachstum geht nur bis ca. 1 cm unter die Oberfläche hinauf. Eine ganz schwache Trübung des Agars stellt sich gewöhnlich ein.

Peptonschottenagarstrich bei 30° C. (Bei Verwendung von viel Impfmaterial.) Erhabener, saftig glänzender, wenig ausgebreiteter braungrauer Belag. Kondenswasser getrübt und mit mächtigem Bodensatz.

Kartoffel bei 30° C. Auch hier stellt sich nur dann Wachstum ein, wenn sehr viel Material aufgetragen worden ist. Es entwickelt sich nach 5 Tagen dem Impfstrich entlang ein kräftiger graubrauner, fett bis saftig glänzender Belag. Dieser Belag erscheint wellig und ist aus vielen würstchenförmigen Erhebungen zusammengesetzt. Bei 20° C ist das Wachstum bedeutend spärlicher.

Bouillonkulturen. a) Milchzuckerbouillon bei 30° C. Nach 2 Tagen mäßige Trübung. Am Boden sitzt ein feines weißes Sediment, das durch Schütteln aufwirbelt und sich fein verteilt, wodurch die Bouillon stark getrübt wird. c) Calciumlaktatbouillon bei 30° C (in Flaschen mit Bügelverschluß). Nach 2—3 Tagen stellt sich mäßige Trübung ein und nach 4—6 Tagen ist der Nährboden gewöhnlich stark getrübt. Am Boden des Gefäßes hat sich ein mächtiger bräunlichgrauer, fein mehliger Niederschlag gebildet. Beim Öffnen der Flaschen ist stets ein Entweichen von Gas bemerkbar.

Milch bei 30° C. Sterilisierte Magermilch gerinnt bei saurer Reaktion nach 4—6 Tagen; einige Zeit später, nach 8—10 Tagen, scheidet sich über dem Koagulum ein grauweißes, klares Serum ab. Im Koagulum sind Risse und Gasblasen zu beobachten.

Fall 6.

Wir haben bereits unter Fall 3 darauf hingewiesen, daß bei dem dort besprochenen und untersuchten Stück Emmentalerkäse neben den schwarzen auch eine größere Anzahl rostgelber Punkte vorkamen. Ihr Auftreten

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

war, zum Unterschied von den dunklen, mehr auf das Innere des Käses beschränkt und ihre Zahl, im Verhältnis zu den schwarzen Punkten, nur eine geringe. Diese Punkte erschienen als rundliche, ziemlich kompakte Gebilde, und hatten das Aussehen von Bakterienkolonien. Die mikroskopische Prüfung ergab ein kurzes, unbewegliches und sporenloses Kurzstäbchen. Bei etwas vorsichtiger Entnahme von Material aus den braunen Flecken gelang es leicht, schon bei der ersten Aussaat eine Reinkultur zu erhalten.

Im nachfolgenden seien in Kürze die mit den verschiedenen Nährsubstraten erhaltenen Daten zusammengestellt.

a) Mikroskopischer Befund.

Unbewegliche, sporenlose Stäbchen, häufig zu zweien, von 1,2—1,8 μ Länge und 0,5—0,8 μ Breite.

b) Kulturelles Verhalten.

Peptonschottenagarplatten bei 30° C. Das Wachstum ist verhältnismäßig spärlich. Nach 3 Tagen bemerkt man mikroskopisch kleine Pünktchen, von denen vereinzelte zu größeren Kolonien auswachsen, und nach 10—14 Tagen bis 1 mm Durchmesser erreichen. Die Tiefenkolonien sind wesentlich größer als die Oberflächenkolonien und von bräunlicher Farbe, während die Oberflächenkolonien grauweißlich erscheinen.

Gelatineplatten bei 20° C zeigen kein Wachstum.

Peptonschottenagarstich bei 30° C. Namentlich in der Tiefe ist das Wachstum sehr üppig; das daselbst angehäufte Material wird allmählich durch den Stichkanal herausgeschoben und bildet vor der Öffnung eine Auflagerung (Nagel).

Gelatinestich bei 20° C. Das Wachstum erfolgt nur sehr langsam als dünner Faden, ohne Auflagerung.

Peptonschottenagarschüttelkulturen bei 30° C. Die Kolonien treten nach 2 Tagen als weißliche Pünktchen auf, die nach 10 Tagen einen Durchmesser von 5—6 mm erreichen, also zu Riesenkolonien ausgewachsen sind. Im auffallenden Lichte erscheinen sie intensiv braun, im durchfallenden gelblich-weiß. Sie sind linsenförmig.

Peptonschottenagarstich bei 30° C. Deutlich wahrnehmbares Wachstum tritt erst nach 6—7 Tagen auf, als wenig erhabener, glänzender, braungrauer Belag von geringer Ausdehnung.

Milch bei 30° C. Sterile Magermilch wird nach 6—7 Tagen durch Säurung zur Gerinnung gebracht. Das Gerinnsel ist sehr gleichmäßig; später wird ein klares Serum ausgeschieden.

Kartoffel. Bei 30° C erscheint nach 4—5 Tagen ein wurmerdeartiger, glänzender, dunkelbrauner Belag, welcher dicker wird, und dessen einzelne Würstchen nach 8 Tagen eine Höhe bis zu 3 mm erreichen. Bei 20° C ist die Entwicklung bedeutend spärlicher.

Bouillonkulturen. a) Peptonbouillon bei 30° C. Nur sehr geringes Wachstum. Erst nach 14 Tagen zeigt sich ein schwacher Bodensatz. b) Milchzuckerbouillon bei 30° C. Nach 4—5 Tagen ist die Bouillon diffus getrübt. Am Boden des Gefäßes setzt sich ein bräunlichweißes, flockiges, zuweilen mehliges Sediment ab. c) Calciumlaktatbouillon bei 30° C. Hier tritt schon nach 2 Tagen schwache Trübung auf, die nach einigen weiteren Tagen sehr intensiv geworden ist. Zudem stellt sich ebenfalls allmählich ein mächtiges bräunliches Sediment am Boden des Gefäßes ein. d) Käseextraktbouillon bei 30° C. Nach 8 Tagen erscheint ein weißlicher Niederschlag, der langsam an Volumen zunimmt, und dessen Farbe mehr und mehr in einen bräunlichen Ton übergeht. Nach 2—3 Monaten ist das Sediment intensiv braun gefärbt.

Chemisch-biologisches Verhalten der Erreger der braunen Punkte.

Die vergleichende morphologische und kulturelle Untersuchung hat gezeigt, daß sich die beiden (bei Fall 5 und 6), als Erreger der braunen Punkte ermittelten Mikroben sehr nahe stehen. Beiden Organismen kommt die Fähigkeit zu, ein braunes Pigment nicht nur im Käse, sondern auch auf geeigneten künstlichen Nährmedien zu bilden und Milch durch Säuerung zum Gerinnen zu bringen; beide haben ferner die Eigenschaft, Calciumlaktat zu vergären und unter mehr anaëroben Bedingungen zu wachsen. Um über die systematische Stellung der betr. Organismen urteilen zu können, schien es zweckmäßig, zur Ergänzung der bakteriologischen Untersuchung auch eine solche in chemischer Richtung vorzunehmen. Bei der chemischen Untersuchung war es naheliegend, zunächst das auffallendste Moment einer näheren Betrachtung zu unterziehen. Es ist dies die Farbstoffbildung. In der Literatur findet man Angaben über eine große Zahl Bakterien mit ausgesprochenem Vermögen, Farbstoffe zu produzieren. Angaben, namentlich in bezug auf die chemische Zusammensetzung oder das Verhalten gegen chemische Agenzien, welche eine Klassifikation ermöglichen würden, findet man hingegen nur sehr spärlich verzeichnet. Am eingehendsten ist das Verhalten der Bakterienfarbstoffe gegen Lösungsmittel untersucht worden. Von Migula (6) ist dieses Verhalten der leichteren oder schwereren Löslichkeit der Farbstoffe in Wasser und Alkohol zu einer systematischen Einteilung der chromophoren Bakterien verwendet worden. Diese Einteilung umfaßt 3 Gruppen. Die erste Gruppe enthält diejenigen Bakterienarten, welche einen in Wasser löslichen Farbstoff besitzen. Hierzu gehören alle Fluorescenten, und alle jene, welche die Nährböden durchfärben. Die zweite Gruppe wird durch diejenigen Arten repräsentiert, deren Farbstoff in Wasser unlöslich, dagegen in Alkohol löslich ist. Hierher kann die größte Zahl der Pigmentbakterien gezählt werden. In die dritte Gruppe sind schließlich alle diejenigen Organismen verwiesen worden, deren Farbstoff weder in Wasser noch in Alkohol löslich ist. Bislang sind nur zwei hierher gehörende Arten bekannt, und zwar: Micrococcus cereus flavus und Pseudomonas berolinensis.

Zur Isolierung des Farbstoffpigmentes wurden die ausgesprochen dunkelbraun gefärbten Kartoffelkulturen verwendet. Mittelst eines Spatels konnte durch vorsichtiges Abkratzen die Bakterienmasse gewonnen werden. Ein Teil der so erhaltenen Masse wurde nun im Achatmörser mit Wasser, ein anderer Teil dagegen mit verschiedengradigem Alkohol gut verrieben. Diese Extraktionsversuche schlugen jedoch vollkommen fehl; der Farbstoff erwies sich weder in Wasser noch in Alkohol löslich; auch in Äther, Benzol, Chloroform, Säuren und Alkalien ist er vollständig unlöslich. Infolge dieses Verhaltens müssen wir die Organismen als weitere Vertreter der dritten Gruppe nach Migula (l. c.) einreihen. Gegen verdünnte Säuren und Basen zeigt sich der Farbstoff sehr beständig und wird von denselben nicht verändert; auch andauernde Belichtung scheint keinen wahrnehmbaren Einfluß auszuüben.

Mit konzentrierten Säuren hingegen gibt der Farbstoff resp. die gefärbte Bakterienmasse einige charakteristische Reaktionen, während Versuche mit konzentrierten Basen stets negativ ausfielen.

Die diesbezüglichen Resultate waren folgende:

Agenzien	Farbenreaktion
Konz. $H_2SO_4 + CHCl_3$	rostrot, dann blau-violett, nachher sich verfärbend
Konz. H_2SO_4	rostrot, nachher sich schmutzig verfärbend
Konz. rote HNO_3	grün
Konz. HCl	keine Färbung
Konz. CH_3CO_2H	„ „
KOH 1 : 1	„ „
NH_4OH 24%	„ „

Reduktionsversuche mit Zinn und Salzsäure, sowie Oxydationsversuche mit 30 Proz. Wasserstoffsuperoxyd hatten ebenfalls keinen Erfolg. Diese Ergebnisse zeigen, daß der Farbstoff in naher Beziehung zu den Lipochromen steht; doch scheint er seiner Unlöslichkeit halber mit den Lipochromen nicht identisch zu sein.

Eine weitere Eigenschaft unserer Organismen ist das Säurebildungsvermögen. So wird z. B. Milch infolge Säurebildung zur Gerinnung gebracht. Hier konnte es sich voraussichtlich in der Hauptsache nur um das Entstehen von Milchsäure oder flüchtigen Fettsäuren handeln. Eine Untersuchung nach dieser Richtung erschien daher geboten. Auch war es interessant, zu prüfen, wie sich die Organismen in bezug auf das Eiweißspaltungsvermögen verhalten.

a) Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren.

Zur Bestimmung der flüchtigen Säuren wurden diese, nach Zusatz der nötigen Menge Schwefelsäure zu der Kulturflüssigkeit, im Dampfstrom abdestilliert; das Destillat wurde sodann mit einem geringen Überschuß von Barythydrat von bekanntem Gehalt versetzt, eingeengt und nach der von Jensen (7) modifizierten Duclauxschen (8) Methode fraktioniert destilliert. Durch die hierbei erhaltenen Zahlen wurde das quantitative Verhältnis, in dem die Säuren vorhanden sind, festgelegt und durch successives Fällen der einzelnen Fraktionen mit Silbernitrat und Bestimmung des Silbergehaltes der Fällungen konnten die Säuren qualitativ bestimmt werden.

Die Untersuchung ergab folgende Resultate:

I. Erreger der Braunfärbung bei Fall 5.

Milch	Fraktion	Dest. Zahl	Propionsäure	Essigsäure	Säureverhältnis		Silbergehalt
					Propionsäure	Essigsäure	
a) **Mit Kreide** 100 ccm Milch ergeben ein Destillat, welches zur Neutralisation 212 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge verlangte	I	84	63	21	3	1	60,18
	II	78	51	27	1,9	1	60,54
	III	40	13	27	1	2,1	63,27
		202	127	75	1,7	1	
b) **Ohne Kreide** 100 ccm ergaben ein Destillat, welches zur Neutralisation 116 ccm Lauge verlangte	I	28	17	11	1,5	1	60,23
	II	35	12,5	22,5	1	1,8	61,62
	III	42	14	28	1	2	62,75
		105	43,5	61,5	1	1,4	

Erreger der Braunfärbung bei Fall 6.

Milch	Fraktion	Dest. Zahl	Propionsäure	Essigsäure	Verhältnis Propionsäure	Verhältnis Essigsäure	Silbergehalt
Mit Kreide 100 ccm Milchdestillat verlangten zur Neutralisation 281 ccm Lauge $\frac{n}{10}$	I	67	48	19	2,5	1	a) 59,98 e) 61,05
	II	111	73	38	1,9	1	a) 60,88, 61,16, 61,28, 62,58,
	III	83	26,5	56,5	1	2,1	61,82, 62,84
	IV	15	2	13	1	6,5	Fällung unwägbar und schwarz „CH_2O_2.“
		276	149,5	126,5	1,2	1	

Aus diesen Ergebnissen resultieren Zahlen, welche auf ein Gemisch von Propionsäure und Essigsäure hinweisen.

Namentlich sind es die Silbersalze der Einzelfraktionen, welche für das Vorhandensein der beiden Säuren sprechen. Es scheint, daß neben diesen beiden noch eine Spur Ameisensäure gebildet worden ist; wenigstens spricht hierfür die Tatsache, daß die letzten Anschüsse der Silberfraktionen die Neigung haben leicht schwarz zu werden. Die Ameisensäure ist hier aber wahrscheinlich nicht ein Produkt der Milchzucker- resp. Milchsäuregärung, sondern entstammt den Eiweißstoffen.

b) Bestimmung der Eiweißspaltung.

Um die Intensität der Eiweißspaltung zu bestimmen, wurde der lösliche Stickstoff, d. h. der durch Kochen mit Essigsäure nicht koagulierbare, und der Zersetzungsstickstoff, d. h. der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Stickstoff, bestimmt. Durch Abzug des entsprechenden ursprünglichen Stickstoffgehaltes der Milch ergibt sich ein Bild der von den Mikroben bewirkten Spaltung (alles ausgedrückt in Prozenten des Gesamtstickstoffes).

Gruppen der stickstoffhaltigen Bestandteile	Fall 5		Fall 6
	Mit Kreide	Ohne Kreide	Mit Kreide
Löslicher Stickstoff	1,48	2,15	4,88
Zersetzungsstickstoff	1,93	0	0

Hieraus ergibt sich also, daß die Organismen nur wenig befähigt sind, Eiweiß abzubauen, und sie vor allem nicht imstande sind, wesentliche Mengen der einfachsten Spaltungsprodukte zu bilden.

Ähnliche Resultate wie bei der Vergärung der Milch erhielten wir auch bei der Gärung von Calciumlaktatbouillon. Untersucht wurde, wie bei der Milch, auf flüchtige Fettsäuren, nicht flüchtige Fettsäuren, löslichen Stickstoff und Zersetzungsstickstoff.

Zu unseren Versuchen verwendeten wir die von v. Freudenreich und Jensen (9) vorgeschlagene Nährlösung, bestehend aus:

Wasser	1000 ccm
Pepton (Witte) . .	20 g
Dikaliumphosphat .	2 „

9458

Natriumchlorid . .	5 g
Calciumchlorid. . .	20 „

die wir in Flaschen mit Bügelverschluß verteilten.

Die flüchtigen Säuren wurden auch hier durch Destillation im Dampfstrom abgetrieben, sodann das mit Barythydrat schwach alkalisch gemachte Destillat eingeengt und fraktioniert destilliert. Die einzelnen Fraktionen ergaben folgende Verhältniszahlen:

Erreger der Braunfärbung bei Fall 5.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9		Silbergehalt
I. Fraktion	11,2	22,1	32,9	43,3	53,5	63,5	73,1	82,6	91,5	gefunden	a) 59,84 %
In 100 ccm titriert	11,2	22,2	33,1	43,3	53,6	63,5	73,2	82,4	91,3	berechnet	b) 60,69
76,10 $\frac{n}{10}$	In 100 ccm 60,88 Ps + 15,22 Fs; in 110 ccm = 64,1 Ps + 19.0 Es, Ps : Fs = 3,4 : 1*).										
II. Fraktion	10,5	21,0	31,4	41,4	51,4	61,3	71,3	80,9	90,5	gefunden	61,64 %
In 100 ccm titriert	10,6	21,2	31,3	41,2	51,5	61,3	71,1	80,6	90,3	berechnet	
28,05 $\frac{n}{10}$	In 100 ccm = 18,70 Ps + 9,35 Fs; in 100 ccm = 19,7 Ps + 11,7 Es; Ps : Es = 1,7 : 1.										
III. Fraktion	8,8	18,0	27,3	36,7	46,0	55,6	65,7	76,0	87,1	gefunden	
In 100 ccm titriert	8,9	18,0	27,4	36,7	64,2	55,9	66,0	76,3	87,4	berechnet	
13,62 $\frac{n}{10}$	In 100 ccm 4,54 Ps + 9,08 Es; in 110 ccm = 4,8 Ps + 11,4 Es; Ps : Es = 1 : 2,4.										
	Total: 88,6 Ps + 42,1 Es = D.Z = 130,7. Verhältnis Ps : Es = 2,1 : 1.										

---

[1]) Ps bezeichnet Propionsäure, Es Essigsäure.

Erreger der Braunfärbung bei Fall 6.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9		Silbergehalt
I. Fraktion	11,4	22,6	33,4	43,9	54,1	64,1	73,6	82,9	91,7	gefunden	a) 59,3%Ag
In 100 ccm titriert	11,3	22,5	33,3	43,8	54,2	64,0	73,6	82,8	91,6	berechnet	b) 59,8 „
42,0 $\frac{n}{10}$	In 100 ccm = 35 Ps + 7 Es; in 110 ccm = 37,6 Ps + 8,8 Es; Ps : Es = 4,3 : 1.										
II. Fraktion	10,9	22,1	32,7	43,3	53,6	63,5	73,1	82,5	91,5	gefunden	a)60,17%Ag
In 100 ccm titriert	11,2	22,2	33,1	43,3	53,6	63,5	73,2	83,4	91,4	berechnet	
45,72 $\frac{n}{10}$	In 100 ccm = 36,58 Ps + 9,14 Es; in 110 ccm = 38,5 Ps + 11,4 Es; Ps : Es = 3,4 : 1.										
III. Fraktion	10,6	21,3	31,9	42,1	52,3	62,3	72,0	81,5	90,8		
In 100 ccm titriert	10,7	21,5	31,7	42,2	52,2	62,1	71,8	81,2	90,5		60,13 % Ag
36,78 $\frac{n}{10}$	In 100 ccm = 26,27 Ps + 10,51 Es; in 110 ccm = 27,5 Ps + 13,1 Es; Ps : Es = 2,1 : 1										
IV. Fraktion	9,8	19,9	29,9	39,8	49,7	59,5	69,3	79,3	89,4	gefunden	a) 60,43%Ag
In 100 ccm titriert	9,9	20,0	29,8	40,6	49,7	59,3	69,2	79,0	89,2	berechnet	b) 63,78 %
48,18 $\frac{n}{10}$	In 100 ccm = 27,23 Ps + 29,95 Es; in 110 ccm = 28,7 Ps + 26,2 Es; Ps : Es = 1,1 : 1.										
Total:	132,3 Ps + 59,5 Es = 191,8 = für 200 ccm Bouillon, für 100 ccm Bouillon = 95,9 = DZ. Verhältnis Ps : Es = 2,2 : 1.										

Die Duclauxschen Verhältniszahlen der einzelnen Fraktionen zeigen, daß die Vergärung der Milchsäure so vor sich geht, daß daraus Propionsäure und Essigsäure entstehen, und zwar in einem Verhältnis von 2 : 1. Dieses wird auch durch die Analysen der Silberfällungen vollauf bestätigt. Die ersten Fraktionen geben bei der Fällung fast reines Silberpropionat, die letzten hingegen fast reines Silberacetat, dazwischen liegen Fällungen, die aus einem Gemisch von Silberpropionat und Silberacetat bestehen.

In Peptonbouillon ist der Eiweißumsatz nur gering. Es werden durch die Organismen von Fall 5 = 7,80 Proz. und durch diejenigen von
Fall 6 = 6,22 Proz. Zersetzungsstickstoff gebildet.

Sowohl das kulturelle, wie das chemisch-biologische Verhalten der beiden (bei Fall 5 und 6 isolierten) Organismen zeigen, daß diese als identisch aufzufassen sind und nicht in die gleiche Gruppe von Bakterien gehören, wie die Erreger der schwarzen Punkte. Das Vermögen, in verschiedenen Nährböden Propionsäure in größerer Menge neben Essigsäure zu bilden, weist auf ihre Stellung in der Gruppe der Propionsäurebakterien von v. Freudenreich und Jensen, mit denen sie auch kulturell große Übereinstimmung zeigen. Von den letztern sind sie insofern verschieden, als sie befähigt sind, besonders in den Kolonien des Käses, einen gelblich-bräunlichen Farbstoff zu bilden. Wir schlagen daher vor, diesem Typus den Namen Bacterium acidi propionici var. fuscum zu geben.

C. Vorkommen von roten Punkten.

Fall 7[1]).

Eine Anzahl Maikäse zeigten, als sie im Alter von 4—5 Monaten angeschnitten wurden, auf der Schnittfläche rote, rundliche Punkte, die unregelmäßig zerstreut im Käseteig gelagert waren. An einigen Stellen fanden sich auf dem cm^2 3—4 Punkte, an anderen waren auf mehreren cm^2 nur ein Punkt zu sehen. Sie traten sowohl in den äußeren gegen die Rinde hin gelegenen Schichten, wie in der Mitte des Käses auf, doch konnten in der Rinde selbst keine beobachtet werden. Die Größe der Punkte schwankte von ⅓—½ mm im Durchmesser; ihre Farbe war bald rotbraun, bald mehr rosarot. Auf Käsedünnschnitten, die bei schwacher Vergrößerung betrachtet wurden, erschienen die Punkte rund, glattrandig, in der Mitte kompakter; ihre Struktur war nicht genau erkennbar. Sie besaßen im ganzen das Aussehen von Bakterienkolonien und der Beweis, daß es in Wirklichkeit solche waren, konnte leicht durch die mikroskopische Prüfung und die weitere Untersuchung erbracht werden. Die Punkte erwiesen sich beim Einstechen mit der Platinnadel als ziemlich kompakt.

Die mikroskopische Prüfung ergab Bakterienkolonien, die aus rundlichen und schwach ovalen, unbeweglichen Zellformen bestanden. Die Größe der Zellen betrug 1,4 : 1,2 μ. Neben Einzelindividuen waren häufig auch zwei, seltener vier aneinanderhängende Zellen zu sehen. Das Bild hatte einige Ähnlichkeit mit plumpen Formen von Bact. Güntheri.

Das übrige Verhalten dieser Käse war sonst ein normales.

Über die morphologischen und biologischen Merkmale des betreffenden Mikroben konnten wir folgendes feststellen.

---

[1]) Wir haben über diesen Fall bereits an anderer Stelle (Landw. Jahrbuch der Schweiz 1908, p. 46) referiert. Der Vollständigkeit halber führen wir dieses Beispiel in etwas abgekürzter Form nochmals an.

a) Mikroskopischer Befund.

Gewöhnlich tritt der Organismus als plumpes Kurzstäbchen auf; jedoch ist es unter Umständen schwierig mit Sicherheit zu entscheiden, ob Kurzstäbchen oder Coccus vorliegt. Er ist unbeweglich. Die Größe variiert je nach Nährboden und je nach den äußeren Verhältnissen nicht unbedeutend. Wir stellten, bei mit Fuchsin gefärbten Präparaten, folgende Maße fest:

Nährböden:	Länge:	Breite:	
Milchzuckerbouillon	0,8—1,6	0,7—1,0	
Kartoffel, bei Luftzutritt	1,2—3,6	1,0—1,8	viele Involutionsformen
„ unter Luftabschluß	0,9—1,4	0,6—0,7	
Schottenagarschüttelkulturen	1,0—1,6	0,9—1,2	

b) Kulturelles Verhalten.

Schottenagarplatten bei 30° C. Nach 6 Tagen sind rundliche, kaum ⅓—½ mm im Durchmesser haltende Scheibchen zu sehen, die im auffallenden Lichte braun, bei durchfallendem Lichte hellgelb erscheinen. Das Wachstum an der Oberfläche geht stets von im Nährboden steckenden Kolonien aus. Nach 8 Tagen erreichen die rundlichen Oberflächenausbreitungen bis 3 mm im Durchmesser. Ihre Farbe ist gelblich und nur die Peripherie erscheint graulich durchscheinend. Die Tiefenkolonien sind kreisrunde, glattrandige Scheibchen, die in der Mitte verdickt sind. Sie besitzen nach dieser Zeit einen Durchmesser von 1½—2 mm. Die Struktur ist gekörnt.

Gelatineplatten bei 20—22° C. Kein Wachstum.

Schottenagarstich bei 35° C. Das Wachstum im Stichkanal ist sehr kräftig. Wird der Stich mit Material aus festen Kulturen angelegt, so bildet sich allmählich um die Einstichöffnung eine höckerförmige Auflagerung; wird er dagegen mit flüssigen Kulturen beschickt, so fehlt die Oberflächenentwicklung. Die Farbe der Kultur ist braunrot. Nach 12 bis 14 Tagen stellt sich eine schwache Trübung des Nährbodens ein.

Gelatinestich bei 20—22° C. Das Wachstum erscheint sehr langsam als feiner Streifen von rötlich-gelber Farbe. Auflagerung bildet sich keine. Ältere Stichkulturen, die einige Zeit im Brutschrank zur Verflüssigung des Nährbodens gestanden hatten, wurden bei Zimmertemperatur wieder fest.

Schottenagarschüttelkulturen bei 30° C. Nach 4 Tagen können kleine Pünktchen beobachtet werden, die nach 8 Tagen bei geeigneter Verdünnung einen Durchmesser von 1—4 mm erreichen. Sie sind meistens kreisrund, glattrandig und in der Mitte verdickt. Ihre Farbe ist im auffallenden Licht orangegelb, bei durchfallendem Licht rotbraun. Die Größe der Kolonien ist je nach ihrer Lage im Nährboden verschieden. So besitzen die in der ca. 1 cm hohen unter der Oberfläche gelegenen Zone nur einen Durchmesser von 1—2 mm, während die tiefer gelegenen 3—4 mm erreichen. Gewöhnlich stellt sich nach 14 Tagen Gasbildung ein, die sich entweder durch Heben der ganzen Agarschicht oder durch Auftreten von Rißchen und Gasblasen bemerkbar macht. Bei 35° C ist das Wachstum langsamer und gewöhnlich bleiben die Kolonien kleiner als bei 30° C.

Agarstrich. Bei 35° C. Kein nennenswertes Wachstum.

Bei 30° C. Dem Impfstrich entlang bildet sich sehr langsam ein spärlicher Belag von weißlich-gelber Farbe. Das Kondenswasser bleibt klar und am Boden setzt sich ein gelbweißes Sediment ab.

Bei 20° C. Der Impfstrich besteht aus kleinen, punktförmigen, saftig glänzenden Kolonien von grauweißer Farbe. Der Bodensatz ist orangegelb verfärbt.

Kartoffel bei 30° C. Nach 2 Tagen spärlicher, fuchsinroter, nicht zusammenhängender Belag. Später wird das Wachstum kräftiger und besteht aus würstchenförmiger Auflagerung von zuweilen bedeutender Mächtigkeit.

Kartoffel bei 30° C unter anaëroben Bedingungen. (Verfahren nach Prof. Omelianski.) Abweichend von der bei Luftzutritt gehaltenen Kultur ist hier der Belag gleichmäßig zusammenhängend, über die Impfstelle hinausreichend, mäßig erhaben, mit unregelmäßig gelappter Randzone. Die Farbe des Belages ist anfänglich orangerot, später fuchsinrot.

Bouillonkulturen: a) Gewöhnliche Peptonbouillon bei 30° C. Der Nährboden wird erst nach längerer Zeit getrübt, klärt sich dann wieder und am Boden setzt sich ein graues, mehliges Sediment ab. Bei 35° C ist kein Wachstum sichtbar.

b) Milchzuckerbouillon bei 20, 30, und 35° C. Bei allen Temperaturen ist kräftiges Wachstum zu konstatieren. Bei 30° C tritt schon nach 2 Tagen diffuse Trübung der Bouillon ein, bei 20° und 35° C nach 3 und 4 Tagen. In allen Kulturen bildet sich ein grauweißliches, flockiges, zuweilen mehliges Sediment, das durch Schütteln aufwirbelt und sich gut verteilt.

c) Calciumlactatbouillon bei 30° C in Flaschen mit Bügelverschluß. Nach 2—4 Tagen stellt sich schwache Trübung ein, und nach 5—7 Tagen erscheint die Bouillon diffus getrübt; am Boden setzt sich ein gelblichweißes Sediment ab. Beim Öffnen der Flaschen entströmt bei älteren Kulturen stets kräftig Gas.

d) Käsebouillon bei 30° C. (Wasserextrakt aus Käse). Die Verwendung dieses Nährbodens hatte den Zweck, uns über die Bedingungen der Farbstoffbildung unseres Mikroben eventuell weiteren Aufschluß zu geben. Nach 8 Tagen ist ein Sediment von orangeroter Farbe abgesetzt. Nach weiteren 10 Tagen erscheint auch die Flüssigkeit schwach rötlich gefärbt, und nach 2—3 Monaten ist das Sediment dunkelrot.

Milch bei 30° C. Sterilisierte Milch gerinnt bei saurer Reaktion in kleinen Reagensgläsern von 8—10 cm^3 Inhalt nach 10—12 Tagen, in Flaschen mit Bügelverschluß von ca. 300 ccm, also unter mehr anaëroben Bedingungen, nach 6—7 Tagen. In älteren Milchkulturen hat sich über dem Coagulum ein graues klares Serum ausgeschieden.

Fall 8.

Im Februar 1908 gelangten wir in den Besitz von Käseproben, die herstammten aus Käsen der vorhergehenden Sommerproduktion. Diese Proben zeigten das auffallende Verhalten, daß die Löcher im Käse gleichmäßig verteilt waren. Direkt unter der Rinde konnten ebenso große Augen beobachtet werden, wie im Innern. Diese Tatsache allein wäre für die Bewertung des Käses ohne Einfluß gewesen, wenn sich nicht als Folge davon die höchst unangenehme Erscheinung geltend gemacht hätte, daß die Käselaibe, sobald sie in den kalten Keller kamen, an der Oberfläche Einsenkungen aufwiesen. An derjenigen Stelle, wo sich unter der Rinde ein Loch befand, trat die Vertiefung auf. Gelegentlich bildeten sich bei den trichterartigen Einsenkungen Risse, was zu fauligen Stellen führte. Als mutmaßliche Ursachen genannter

Fehler wurden durch die Experten (Prof. Dr. Burri und Direktor Peter-Rütti) angenommen: den örtlichen Milchverhältnissen nicht richtig angepaßte Fabrikationstechnik und ein zu schwaches Salzbad. Interessant war ferner, daß bei näherer Betrachtung der frischen Schnittflächen dieses Käses verhältnismäßig zahlreiche purpurrote Punkte zu sehen waren, die sowohl im Teig, wie auch an den Wandungen der Löcher auftraten. Ihre Größe betrug ½—1½ mm im Durchmesser; es gelang leicht, sie mit der Platinnadel abzuheben. Die ganze Erscheinung hatte ziemlich große Ähnlichkeit mit der unter Fall 7 beschriebenen, nur war dort die Größe der Punkte im allgemeinen geringer. Brachte man mit der Nadel Material aus den roten Flecken auf ein Deckglas und betrachtete man es unter dem Mikroskop, so waren ungleichmäßige kürzere und längere Stäbchen zu sehen. Diese roten Punkte stellen also auch hier Bakterienkolonien dar. Um zu prüfen, in welche Gruppe des Bakteriensystems dieser Organismus einzureihen sei, machten wir mit den roten Kolonien des Käses Aussaaten auf verschiedenen Nährböden, und stellten folgendes fest.

a) Mikroskopischer Befund.

Nährböden:	Länge:	Breite:	
Schottenagarschüttelkulturen	1,1—1,5 μ	0,75 μ	8 Tage alt. Rundliche und ovale Zellen, häufig zu zweien, von unregelmäßiger Form.
Schottenagarstichkulturen	1,3—1,5 μ	0,8—1,2 μ	4 Tage alt. Kurze Einzelstäbchen, selten 4 aneinanderhängende Zellen. Das Bild hat große Ähnlichkeit mit plumpen Formen von Bact. Güntheri. Neben rundlichen sind auch gestreckte, keulenförmige usw. sichtbar.
Kartoffelkultur	0,75—1,5 μ selten bis 3 μ	0,6—1,0 μ	6 Tage alt. Unregelmäßige, kugelförmige, keulenförmige, abnormal ausgezogene und verdickte Zellen. Meistens hingegen ovale Formen.

b) Kulturelles Verhalten.

Gelatineplatten. Diese zeigten bei 20—22° C aufgestellt keine Entwicklung von Organismen.

Peptonschottenagarschüttelkulturen bei 30° C. Erst nach 3—4 Tagen ist das Wachstum sichtbar. Nach 8 Tagen erreichen die Kolonien eine Größe von 1—2 mm im Durchmesser. Sie sind kreisrund, linsenförmig und ihre Farbe ist rotbräunlich. Der Nährboden wird nicht oder nur sehr schwach getrübt. Nach einiger Zeit stellt sich gewöhnlich schwache Gasbildung ein.

Schottenagarstich bei 30° C. Bandförmiges, kräftiges Wachstum im Stichkanal von bräunlicher Farbe. Um die Einstichöffnung herum höckerförmige Auflagerung von dunkelroter Farbe.

Kartoffel bei 30° C. (Hier stellt sich erst Wachstum ein, wenn viel Impfmaterial verwendet wird.) Purpurroter, glänzender, aus lauter würstchenförmigen Erhabenheiten bestehender Belag ohne bedeutende Ausbreitung.

Calciumlactatbouillon bei 30° C, in Flaschen mit Bügelverschluß. Nach 3—4 Tagen schwache und später starke diffuse Trübung, mit mächtigem bräunlichen Sediment. Beim Öffnen der Flaschen entweicht stets Gas.

Milch. Bei 35° C tritt nach 4 Tagen gleichmäßige Gerinnung ein; bei 30° C erst später und bei 20° C ist die Milch selbst nach 1½ Monaten noch nicht geronnen, sondern nur dickflüssig geworden.

Chemisch-biologisches Verhalten der Erreger der roten Punkte.

In diesen beiden Fällen (7 und 8) ergab die bakteriologische Untersuchung wiederum Organismen von großer Übereinstimmung. Wir erachten es daher als angebracht, die beiden zusammen zu behandeln. Beide Organismen wurden als Verursacher der scharlachroten Punkte im Emmentalerkäse erkannt. Sie sind demnach intensive Farbstoffproduzenten. Die Mikroben sind ferner im Stande, Milch unter Säurebildung zum Gerinnen zu bringen und Calciumlactatbouillon zu vergären.

Als Ausgangsmaterial zur Darstellung des Farbstoffes eigneten sich am besten die Kartoffelkulturen. Das vorsichtig von den Scheiben abgekratzte Bakterienmaterial wurde mit Wasser und Alkohol verrieben und extrahiert; der Farbstoff widerstand jedoch allen Extraktionsversuchen und war auf keine Weise von den Bakterienleibern zu trennen. Wir müssen daher die beiden Mikroben in die dritte Gruppe des von Migula (l. c.) aufgestellten Systems einordnen. Infolge der Unlöslichkeit des Farbstoffes war es nicht möglich, seine chemischen Eigenschaften und spektroskopischen Konstanten festzustellen, hingegen gelang es, mit konzentrierten Säuren einige charakteristische Farbstoffreaktionen zu erhalten, die einigermaßen zur Diagnostik zu verwenden wären. Durch konzentrierte Alkalien wird der Farbstoff nicht verändert.

Die erhaltenen Resultate sind folgende:

Agenzien	Farbstoffreaktionen
Konz. H_2SO_4 + $CHCl_3$	preußischblau, dann violett, hierauf sich verfärbend.
Konz. H_2SO_4	preußischblau, undeutlich violett, hierauf sich schmutzig verfärbend
Rote, rauch. HNO_3	grün
Konz. HCl	schwach bräunlich
Konz. CH_3CO_2H	keine Veränderung
30 % KOH	„
24 % NH_3	„
Sn + HCl	„
30 % H_2O_2	„
Sonnenlicht	„

Nach diesen Reaktionen würde der Farbstoff in die Gruppe der Fettfarbstoffe (Lipochrome) zu verweisen sein und dürfte namentlich dem Carotin oder Lutein nahe stehen. Ein endgültiges Urteil über die Natur und Zugehörigkeit dieses Farbstoffes läßt sich hingegen, der spärlichen Literaturangaben halber, vorläufig nicht fällen.

Milch wird, wie schon oben bemerkt, durch Säuerung zum Gerinnen gebracht. Die die Gerinnung verursachenden Säuren erwiesen sich bei der Untersuchung als ein Gemisch von Propionsäure und Essigsäure. Milchsäure konnte im Rückstande von der Wasserdampfdestillation nachgewiesen werden;

die Menge derselben war dagegen so gering, daß es nicht möglich war, Zusammensetzung und sterisches Verhalten festzustellen.

Das Vermögen, Eiweißstoffe abzubauen, haben diese Organismen nur in geringem Maße; eine schwache Spaltung muß natürlich stattfinden, denn Wachstum bedingt Stickstoffverbrauch, und dieser kann hier nur aus dem Nährmedium entnommen werden. Auch das Lösungsvermögen gegenüber Eiweißkörpern ist nur gering. Für unsere Versuche bedienten wir uns sterilisierter Milch mit und ohne Zusatz von Calciumcarbonat, sowie einer Calciumlactatbouillon.

Die diesbezüglichen Ergebnisse sind, für den Erreger aus Fall 7[1]), in nachfolgender Tabelle zusammengestellt.

	Dest. Zahl	Fraktion	Propionsäure	Essigsäure	Säureverhältnis		Silbergehalt	Stickstoff	
					Ps	Es		Löslich	Zersetzung
Milch mit Kreide	125	I	38	11	3,5	1	58,89	3,78	1.95
		II	35	14	2,5	1	60,28		
		III	13	15	1	1,2	62,67		
			86	40	2,1	1			
Milch ohne Kreide	100	I	32	11	2,9	1	60,12	1,89	1,04
		II	33	25	1,3	1	62,5		
			65	36	1,8	1			
Calciumlaktatbouillon	105		71	34	2,1	1	—	—	4,94
Milchzuckerbouillon	74		48	26	1,9	1	—	—	—

Bei Fall 8 untersuchten wir nur die Calciumlactatbouillonkultur. Beim Öffnen der Druckflaschen entwich ein Gas, das sich nach der Analyse als Kohlensäure erwies, verunreinigt durch Spuren von Schwefelwasserstoff. Letzterer wurde als solcher durch die Schwärzung von Bleipapier und seinen Geruch erkannt. An flüchtigen Säuren wurden wiederum Propionsäure und Essigsäure nachgewiesen. Die erhaltenen Resultate findet man in folgender Tabelle verzeichnet.

Erreger der Rotfärbung bei Fall 8.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Silbergehalt	
I. Fraktion	11	22	32,9	43,5	53,6	63,4	73,3	82,6	91,5	gefunden	59,73
In 100 ccm titriert	11,2	22,2	33,1	43,3	53,6	63,5	73,2	82,4	91,3	berechnet	
$46{,}65 \frac{n}{10}$	In 100 ccm = 37,42 Ps + 9,33 Es; in 110 ccm = 39,3 Ps + 11,7 Es; 3,4 Ps : 1 Es.										
II. Fraktion	11,0	22,0	32,7	42,9	53,1	63,2	73,0	82,1	90,8	gefunden	59,93
In 100 ccm titriert	11,0	22,0	32,9	43,0	53,3	63,1	72,8	82,1	91,2	berechnet	
$26{,}00 \frac{n}{10}$	In 100 ccm = 20,19 Ps + 5,77 Es; in 110 ccm = 21,2 Ps + 7,2 Es; 3 Ps : 1 Es.										

---

[1]) Die ausführlichen Ergebnisse über diesen Fall sind im Landw. Jahrbuch 1908, p. 46—52 veröffentlicht worden.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Silbergehalt	
III. Fraktion	10,8	21,7	32,5	42,8	52,8	62,7	72,5	81,8	90,9	gefunden	60,64
In 100 ccm titriert	10,9	21,8	32,4	42,7	52,8	62,7	72,4	81,8	90,8	berechnet	
$47{,}50 \frac{n}{10}$	In 100 ccm = 35,6 Ps + 11,9 Es; in 110 ccm = 37,6 Ps + 14,9 Es; 2,6 Ps : 1 Es.										
IV. Fraktion	10,3	21,1	31,5	41,6	51,7	61,5	71,3	81,0	90,6		61,02
In 100 ccm titriert	10,7	21,3	31,6	41,7	51,9	61,7	71,4	80,9	90,4		
$43{,}11 \frac{n}{10}$	In 100 ccm = 29,98 Ps + 13,1 Es; 31,6 Ps + 16,4 Es; 1,9 Ps : 1 Es.										
V. Fraktion	9,3	18,9	28,5	38,2	48,0	57,8	67,9	78,4	88,9		62,93
In 100 ccm titriert	9,5	19,1	28,7	38,4	48,1	57,8	67,7	77,8	88,4		
$20{,}91 \frac{n}{10}$	In 100 ccm = 9,09 Ps + 11,82 Es; in 110 ccm = 9,6 Ps + 14,8 Es; 1 Ps : 1,5 Es.										
Total:	139,3 Ps + 65 Es = 204,3 für 200 ccm Bouillon, für 100 ccm Bouillon = 102 = DZ. Verhältnis Ps : Es = 2,1 : 1.										

Aus unsern Analysenergebnissen folgt, daß man es bei den 4 letzten Fällen (5, 6, 7 und 8) mit reinen Propionsäure-Essigsäuregärungen zu tun hat. Über diese Gärungen gibt uns Fitz (10) die ersten richtigen Erklärungen. Dieser Autor nimmt an, daß die Milchsäure resp. deren Salze durch seine Organismen zu Propionsäure und Essigsäure vergoren werden. Er fand so auf 2 Teile Propionsäure 1 Teil Essigsäure, und stellt daher für die Vergärung der Milchsäure die Formel auf:

$$3\ C_3H_6O_3 = 2\ C_3H_6O_2 + C_2H_4O_2 + CO_2 + H_2O.$$

Es müssen also aus 3 Mol. Milchsäure 2 Mol. Propionsäure, 1 Mol. Essigsäure, 1 Mol. Kohlensäure und 1 Mol. Wasser gebildet werden. Wir können diese Annahme von Fitz auch für unsere beiden Mikroben, Bacterium acidi propionici var. fuscum und Bacterium acidi propionici var. rubrum ,vollkommen bestätigen.

Beide Organismen bilden aus Milchsäure Propionsäure und Essigsäure in einem Verhältnis von 2 : 1. Auch den Milchzucker sind sie befähigt zu vergären. Sie bilden aus demselben wiederum flüchtige Säuren, nur scheint sich das Verhältnis der beiden Säuren zugunsten der Essigsäure zu verschieben. Ob sich die Gärung nach den Formeln:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 4\ C_3H_6O_3 \text{ und}$$
$$3\ C_3H_6O_3 = 2\ C_3H_6O_2 + C_2H_4O_2 + CO_2\ H_2O$$

vollzieht, d. h. der Milchzucker durch die Organismen erst durch Vergärung zu Milchsäure vorbereitet, und diese dann zu Propionsäure und Essigsäure weiter verarbeitet wird, oder ob der Milchzucker auch direkt zu Propion- und Essigsäure abgebaut werden kann, lassen wir vorläufig dahingestellt. Nur das sei nochmals erwähnt, daß es uns in keinem Fall gelungen war, bei Milchzuckerbouillon und Milchkulturen Milchsäure analytisch festzustellen. Der positive Ausfall der Uffelmannschen Reaktion u. a. ist bei solchen Zersetzungsgemischen nicht eindeutig beweisend für das Vorhandensein von Milchsäure.

Im allgemeinen stimmen unsere Resultate mit den von v. Freudenreich und Jensen (l. c.) erhaltenen überein, so daß man die beiden neuen Typen als bloße Spielarten der Propionsäurebakterien betrachten kann.

Versuche, die angestellt wurden, um über die Bedeutung der Magnesiumsalze für das Farbstoffbildungsvermögen dieser Pigmentmikroben Aufschluß zu erhalten, führten zu keinem positiven Resultat. Wir können demnach den von verschiedenen Forschern behaupteten fördernden Einfluß dieser Salze auf die Farbstoffbildung für unsere Organismen wenigstens nicht bestätigen.

Zusammenfassung.

1) Unter den fehlerhaften Erscheinungen, denen man gelegentlich bei Emmentalerkäsen begegnet, ist eine Gruppe dadurch gekennzeichnet, daß sich auf den frischen Schnittflächen einzelne meist kreisrunde Partien von höchstens 1½ mm Durchmesser durch eine von der normalen Farbe der Schnittfläche abweichende Färbung unterscheiden und so der Schnittfläche ein punktiertes Aussehen verleihen. In einzelnen Fällen ist die abweichende Färbung nicht nur auf die punktförmigen Bezirke beschränkt, sondern verbreitet sich mehr oder weniger deutlich diffus über größere Partien des Käseinnern.

2) Eine nähere Untersuchung der punktähnlichen, kugligen Gebilde hat ergeben, daß man es hier mit eigentlichen Bakterienkolonien zu tun hat, die im Käseteig in ähnlicher Weise eingebettet sind, wie die Kolonien in irgend einem der im Laboratorium verwendeten festen, künstlichen Nährböden. Mit diesem Befunde wird eine frühere, von R. Burri (l. c.) mitgeteilte Beobachtung über das Wesen des in Frage stehenden Käsefehlers bestätigt.

3) Die vorliegenden Untersuchungen lehren, daß die auf der Schnittfläche des Käses durch abweichende Färbung auffallenden Punkte nicht einheitlicher Natur sind. Man kann nach äußern Merkmalen unterscheiden zwischen schwarzen bezw. grauen Punkten einerseits und braunen und roten Punkten anderseits. Diesen äußern Unterschieden entsprechen innere in dem Sinne, daß die schwärzlichen Punkte aus Bakterienkolonien bestehen, die dem Bact. Güntheri Lehm. (Bact. lactis acidi Leichm.) angehören, während sich die braunen und roten Punkte aus Bakterien zusammensetzen, welche den von v. Freudenreich und Jensen entdeckten Propionsäurebakterien sehr nahe stehen. Da die letzteren farblos sind, wird man kaum von Identität sprechen können, und aus diesem Grunde haben wir den von uns gefundenen Organismen die Namen Bacterium acidi propionici var. fuscum und Bacterium acidi propionici var. rubrum gegeben.

4) Die Erklärung für das Auftreten brauner und roter Punkte im Käse ist demnach mit dem Nachweis der Entwicklung gewisser farbstoffbildender Bakterien zu makroskopisch sichtbaren Kolonien gegeben. Anders liegen die Verhältnisse für die schwarzen Punkte. Die aus den letzteren stammenden Reinkulturen erwiesen sich bei Verwendung der verschiedenen Nährböden als nicht eigentliche Farbstoffbildner, und eine befriedigende Erklärung der Tatsache, daß die betreffenden Kolonien im Käse einen grauen bis schwärzlichen Farbenton annehmen, kann zur Zeit noch nicht gegeben werden.

5) Die Entwicklung makroskopischer Bakterienkolonien im Käse braucht selbstverständlich nicht von gesundheitsschädlichen Folgen begleitet zu sein. In der Tat sind nach Genuß von Käse, der mit beschriebenem Fehler behaftet war, niemals irgendwelche Verdauungsstörungen aufgetreten.

Literaturverzeichnis.

1) **Burri**, R., Über das Vorkommen relativ großer Bakterienkolonien in fehlerhaftem Emmentalerkäse. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 4. 1898. p. 608.)
2) **Troili-Petersson**, Studien über die Mikroorganismen des schwedischen Güterkäses. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 11. 1904. p. 120.)
3) **Gorini**, C., Über die Verteilung der Bakterien im italienischen Granakäse. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 12. 1904. p. 78.)
4) **Rodella**, A., Einiges über die Bedeutung der direkten mikroskopischen Präparate für das Studium des Käsereifungsprozesses. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 15. 1906. p. 143.)
5) **Steinegger**, R., Die Salzsteine, ihre chemische Zusammensetzung, Bildung und Verhütung. (Landw. Jahrbuch d. Schweiz. 1901. p. 132.)
6) **Migula**, Systematik der Bakterien. Bd. 1. p. 283.
7) **Jensen**, O., Biologische Studien über den Käsereifungsprozeß unter spezieller Berücksichtigung der flüchtigen Fettsäuren. (Landw. Jahrbuch d. Schweiz. 1904. p. 319.)
8) **Duclaux**, Traité de microbiologie. T. 3. 1900. p. 384.
9) **Freudenreich**, E. v., und **Jensen**, O., Über die im Emmentalerkäse stattfindende Propionsäuregärung. (Landw. Jahrbuch d. Schweiz. 1906. p. 320.)
10) **Fitz**, Über Spaltpilzgärungen. (Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1878. p. 42 u. 1891; 1879. p. 479; 1880. p. 1039.)

Nachdruck verboten.

Bildung und Verbrauch von Stickoxydul durch Bakterien.

Von **M. W. Beijerinck** mit Mitwirkung von **D. C. J. Minkman.**

Mit 1 Tafel und 4 Textfiguren.

Die Bildung von Stickoxydul beim Denitrifikationsprozesse ist schon durch die Entdecker dieses Vorganges beobachtet, nämlich durch Schlösing[1]) bei der Milchsäuregärung des Zuckers und der Urinfäulnis bei Gegenwart von Nitraten, und von Gayon und Dupetit[2]) bei Denitrifikationsversuchen mit Ammoncitrat bei Gegenwart von Asparagin und Kaliumnitrat.

Diese letzten Autoren haben zwei verschiedene denitrifizierende Bakterienarten, welche sie als *α* und *β* bezeichnen, durch Mittel, welche allerdings als nicht einwandfrei zu betrachten sind, wie sie meinen, in Reinkultur gebracht, und sie glauben festgestellt zu haben, daß *α* unter geeigneten Bedingungen sowohl Stickoxydul wie freien Stickstoff erzeugt, während *β* allein Stickstoff und kein Stickoxydul aus Nitraten erzeugen sollte. Der Wunsch, festzustellen, inwieweit diese Angaben richtig sind, und besonders die Frage, ob es vielleicht Mikroben gibt, welche dem Stickoxydul angepaßt sind und dieses exothermische, bei der Spaltung Wärme entwickelnde Gas als Energie- oder Ernährungsquelle verwenden können, gaben die erste Veranlassung zu den folgenden Zeilen. Die großen Quantitäten Stickoxydul, welche wir bei vielen unserer Versuche fanden, erregten unser Interesse und führten zu weiteren Fragen.

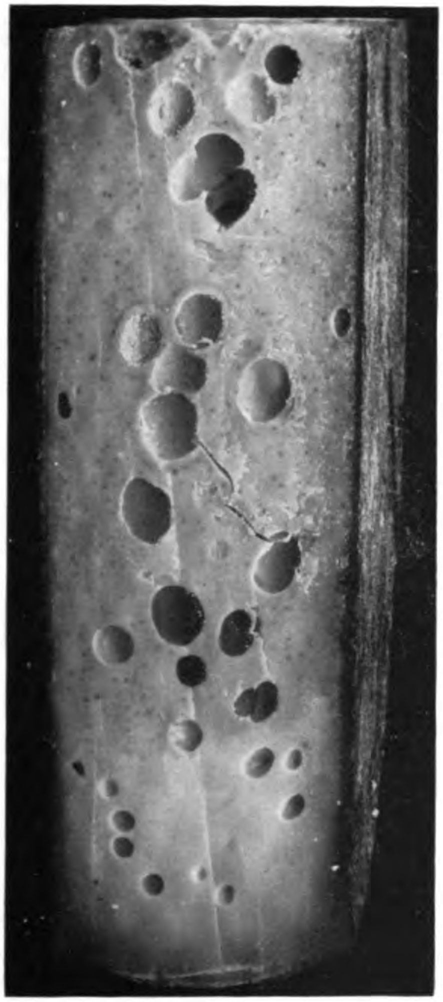
Merkwürdigerweise sind, nach der schon weit zurückliegenden Arbeit von Gayon und Dupetit keine neuen Erfahrungen über Stick-

---

[1]) Journal de Pharmacie et de Chimie, Sér. 4. T. 8. 1868. p. 213. Comptes rendus T. 66. p. 236.

[2]) Réduction des nitrates par les infiniment petits. (Station agronomique de Bordeaux. Nancy 1886. p. 51.)

Thöni u. Allemann, *Makroskop. Bakterienkolonien in Emmentalerkäsen.*



Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

oxydulbildung bei der Denitrifikation gemacht, offenbar weil das Gas von den späteren Untersuchern für Stickstoff gehalten wurde, wovon es sich auch nur unterscheiden läßt durch eine bestimmte Versuchsanstellung.

Über das Verschwinden des Stickoxyduls unter dem Einfluß von Mikroben oder Pflanzen überhaupt liegen keine Untersuchungen vor[1]).

Allgemeines und Methodisches.

Die gegenwärtig gewöhnlich als richtig angenommene Theorie des Denitrifikationsprozesses kann durch die beiden folgenden Formeln dargestellt werden:

$$2\ NO_3K + C\ldots = 2\ NO_2K + CO_2$$
$$\text{und } 4\ NO_2K + 3\ C\ldots = 2\ N_2 + 2\ CO_2K + CO_2$$

worin C... den Kohlenstoff der Kohlenstoffquelle bedeutet, und die Erfahrung zum Ausdruck kommt, daß es sich bei diesem Vorgange um eine innere physiologische Verbrennung handelt.[2])

Da wir das Stickoxydul als niemals fehlendes, oft als beinahe das Hauptprodukt der Denitrifikation erkannten, muß diese Theorie abgeändert werden, weil darin eben dieser prinzipielle Umstand außer acht bleibt.

Ferner ist auch eine Ergänzung der Theorie notwendig geworden.

In ersterer Beziehung sei Folgendes hervorgehoben: Nach unserer Auffassung muß der freie Stickstoff nicht auf Nitrit, sondern auf Stickoxydul zurückgeführt werden. Wir werden nämlich zeigen, daß das Oxydul sehr leicht durch die in der Denitrifikation vorkommenden Bakterien gespalten werden kann, und erinnern an den Umstand, daß diese Spaltung, wie gesagt, eine exothermische ist. Dieses, in Verbindung mit der Erfahrung, daß es leicht gelingt, den Nitratstickstoff nahezu quantitativ in Oxydul überzuführen, läßt es als unabweisbar erscheinen, die Oxydulphase zu betrachten als eine Stufe des Prozesses der Nitratreduktion, welche notwendig durchlaufen werden muß.

Daß dabei auch der Nitritphase eine wichtige Rolle zukommt, steht für uns ebenfalls fest, woraus sich ergibt, daß das Oxydul jedenfalls zum Teile, vielleicht zum größten Teile als eben aus Nitrit entstanden aufzufassen ist.

Daß dieses jedoch der alleinige Ursprung dieses Gases sein sollte, erachten wir als unwahrscheinlich, und glauben die Nitrifikationstheorie ergänzen zu müssen mit der, nach unserer Meinung unabweisbaren Annahme, daß ein Teil des Oxyduls direkt aus dem Nitrat hervorgeht.

Wir kommen demzufolge auf Grund unserer Erfahrungen und Erwägungen zu dem Schlusse, daß außer der Nitritbildung aus Nitrat die drei folgenden Reaktionen charakteristisch für die Denitrifikation sind:

$$2\ NO_3K + 2\ C\ldots = N_2O + CO_3K_2 + CO_2$$
$$2\ NO_2K + C\ldots = N_2O + CO_3K_2$$
$$2\ N_2O + C\ldots = 2\ N_2 + CO_2$$

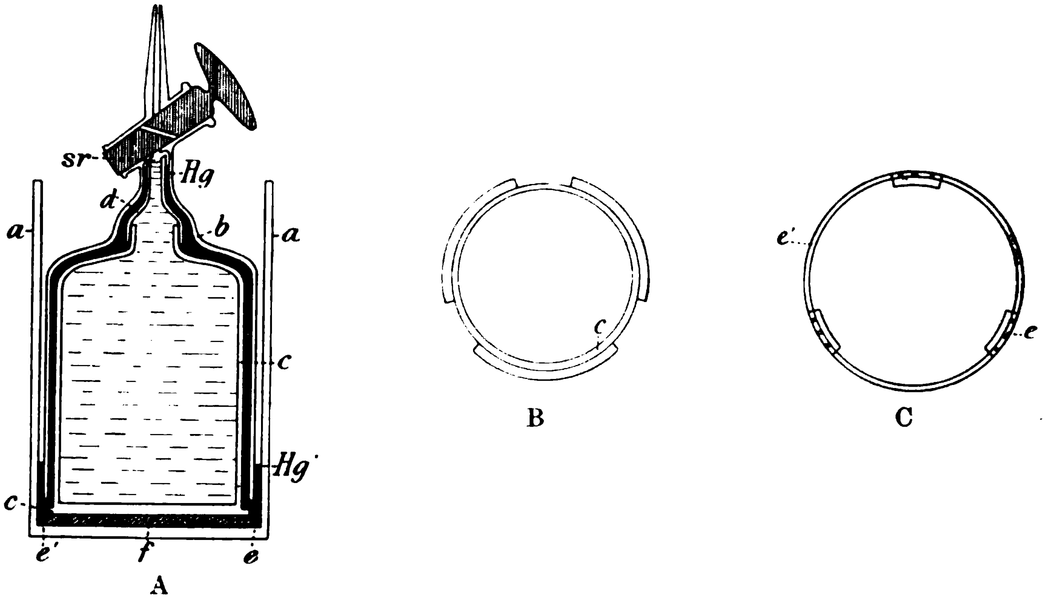
Daß diesen drei letzten Formeln eine größere Wahrscheinlichkeit zukommt wie den obengenannten, wobei zu gleicher Zeit 4 Moleküle Nitrit und 3 Moleküle Kohlenstoff an der Reaktion teilnehmen sollen, liegt auf der Hand.

---

[1]) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Bd. 1. p. 399. u. 559. 1897.

[2]) Für die weitere Literatur über die Denitrifikation verweise ich auf: B. Lemmermann, Kritische Studien über Denitrifikationsvorgänge. Jena 1900, und A. Maassen, Arbeiten aus dem Gesundheitsamte. Bd. 18. 1901. p. 23.

Weil das Stickoxydul in Wasser sehr löslich ist (0,67 Vol. bei 20° C), müssen die darauf zu untersuchenden Gärungsgase oberhalb Quecksilber, oder besser oberhalb einer gesättigten Chlorcalciumlösung, worin bei Zimmertemperatur weniger wie drei Volumprozent auflösen, gesammelt werden. Die dafür bei vielen Versuchen verwendete Einrichtung ist in Figur 1 dargestellt.



Figur 1. Apparat von Minkman zum Auffangen von Gärungsgasen mit minimalem Quecksilbervolum und minimalem Quecksilberspiegel.

A. Längsschnitt a Becherglas; b Gasglocke mit Hahn und Tubulatur; c Gärungsflasche mit Glashelm d; e eiserner Ring mit 3 Höckern zur Befestigung der Gärungsflasche; f Gipsschicht zur Befestigung des eisernen Ringes am Boden des Becherglases; Hg, Hg', Quecksilber.

B. Bodenansicht der Gärungsflasche, um die drei Einschnitte des Kragens zu zeigen, wodurch die drei Höcker des eisernen Ringes passieren können, die beim Drehen der Flasche diese mit „Bajonettverschluß" am Boden halten.

C. Der eiserne Ring mit den drei Haken e, welche durch die Einschnitte des Kragens des Bodens (B) der Flasche passieren können.

Zweck dieses Apparates war, das Gas oberhalb Quecksilber zu sammeln und dabei einen so klein wie möglichen Quecksilberspiegel zu bekommen, um die Bildung des giftigen Dunstes dieses Metalles im Apparate und zu gleicher Zeit das Gewicht des Ganzen minimal zu machen. Die Konstruktion ist folgende:

Zu Boden des Glases a Fig. 1 A ist der eiserne Ring e vermittelst einer Gipsschicht f in der Weise gefestigt, daß nur die drei Haken e Fig. 1 C herausragen. Innerhalb des Glases a und auf dem Gipsboden wird die Kulturflasche c aufgestellt, deren Boden einen horizontalen Kragen mit drei Ausschnitten hat, welche letztere die Haken des eisernen Ringes durchlassen und bei Drehung der Flasche diese durch Bajonettverschluß an dem Boden von a befestigen, so daß das einzugießende Quecksilber die Kulturflasche c nicht heben kann. Diese Flasche ist mit aufgeschliffenem, weitem Glashelm d abgeschlossen, aus dessen geräumiger Öffnung das Gas, ohne allzusehr überzuschäumen entweichen kann. Die Gasempfangsglocke b paßt ziemlich genau um die Flasche c, sodaß, wenn das Quecksilber in das Glas a gegossen und durch den Hahn der Empfangsglocke b bis zum Rande des Glashelmes d aufgesogen wird, nur ein schmaler, ringförmiger Quecksilbermeniskus Hg-Dunst abgeben kann in den schädlichen Raum sr, welcher von Anfang an etwas Luft enthält. Wie das Gas die Glocke b aufheben und für die Gasanalyse gesammelt werden kann, ist aus den Figuren klar. Obschon es nicht zu vermeiden ist, daß der innere Quecksilbermeniskus sich mit der etwas überschäumenden Kulturflüssigkeit befeuchtet, läßt sich mit dem Apparat doch befriedigend arbeiten.

Anstatt Quecksilber kann in diesem Apparate eine gesättigte Chlorcalciumlösung verwendet werden.

In anderen Fällen wurde die Gärung einfach in einer geschlossenen Stöpselflasche eingeleitet, und sobald die Gasentwicklung begann, der Stöpsel abgenommen und durch einen Gummistöpsel mit Gasableiter ersetzt, was leicht ohne Infektion geschehen kann.

Der qualitative Nachweis des Stickoxyduls geschieht dadurch, daß man nach der Entfernung etwa vorhandener Spuren von Sauerstoff vermittelst der Phosphorpipette einige elektrische Funken durchschlagen läßt, während das Gas sich oberhalb der Stärke-Jodkalium-Salzsäurelösung befindet. Ist Stickoxydul vorhanden, so entsteht Stickoxyd, und wenn man eine Luftblase hineinläßt NO_2, welches Jod frei macht und die Flüssigkeit unter dem Gase tief blau färbt. Auch wird dabei direkt ein wenig NO_2 gebildet.

Bestehen mehr als 70 Proz. des Gases aus Stickoxydul, so kann ein glühender Holzspan darin entflammen. Bei einem Gehalte zwischen 50 Proz. und 70 Proz. entflammt ein Holzspan zwar nicht, doch verbleibt er in dem glühenden Zustande.

Für den quantitativen Nachweis von Stickoxydul in Gasgemischen kommen vor allem drei Methoden in Betracht. Ist mehr als 25 Proz. gegenwärtig, so kann das Gemisch, wenn es mit dem gleichen Volum Wasserstoff versetzt ist, durch den elektrischen Funken explodieren; ist weniger vorhanden, so muß das Gas nach Vermischung mit Knallgas zur Explosion gebracht[1]), oder nach Vermischung mit einem bekannten Volum Wasserstoff in der Drehschmidt'schen Platinkapillare verbrannt werden. Weil letzteres Verfahren einfach und allgemein anwendbar ist, wurde dasselbe bei unseren späteren Versuchen stets gebraucht.

Die Gasanalyse findet dann wie folgt statt: Zunächst wird die Kohlensäure absorbiert und die Volumverminderung abgelesen; der Gasrest wird nun mit dem gleichen Volum Wasserstoff vermischt und durch die erhitzte Platinkapillare geführt, worin das Stickoxydul verbrennt nach der Formel:

$$N_2O + H_2 = H_2O + N_2$$

und also eine Kontraktion des Volums auf die Hälfte stattfindet. Die tatsächlich abgelesene Kontraktion gibt also an, wieviel Stickoxydul gegenwärtig war. Der Rest der ursprünglichen Menge ist der von vornan gebildete freie Stickstoff.

Falls etwas Sauerstoff im Gasgemische vorkommt, wird dieser nach der Kohlensäureabsorption mit der Phosphorpipette bestimmt.

Bei unseren in dieser Abhandlung betrachteten Versuchen waren Stickoxyd und Stickstoffperoxyd niemals gegenwärtig, doch haben wir diese

---

[1]) **Hempel**, Gasanalytische Methoden. 3. Aufl. p. 176. 1900. **Kemp's** Methode der Verbrennung mit Kohlenoxyd ist etwas umständlicher.

Gase in geringer Menge bei der Denitrifikation mit Melasse gefunden, trotzdem die Reaktion des Nährmediums alkalisch war.

Schließlich sei noch bemerkt, daß 1 g KNO_3 bei vollständiger Denitrifikation ca. 112 ccm Stickoxydul oder ebensoviel freien Stickstoff erzeugen kann, während diese Zahl für Ammonnitrat 140 ccm pro g beträgt.

Kapitel 1.

Bildung von Stickoxydul durch Bakterien.

1. Einrichtung von Denitrifikationsversuchen im Allgemeinen.

Es gibt eine große Menge von Versuchen, wobei Denitrifikationserscheinungen stattfinden können, weil die verschiedenartigsten Kohlenstoffquellen sich dafür als geeignet erweisen, wenn zugleich irgend ein Nitrat gegenwärtig ist. Wichtig ist, zu beachten, daß der Vorgang am schnellsten bei Temperaturen von 30° bis 37°, je nach den wirksamen Arten, verläuft, und unterhalb dieser Temperaturen sehr verzögert wird. Bei geeigneter Versuchseinrichtung kann man schon innerhalb ein oder zweier Tage reichliche Gasmengen sammeln. Gewöhnlich bekommt man gute Resultate, wenn die Kulturflüssigkeit eine Flasche mit gut eingeschliffenem Stöpsel gänzlich anfüllt, sodaß die gelöste Luft dann offenbar zureichend ist, um den immer notwendigen „Reizsauerstoff“ heranzuführen. Doch hat sich herausgestellt, daß eine Luftblase unter dem Stöpsel für bestimmte Arten notwendig ist. So für den in Gartenerde ziemlich seltenen, carotinhaltigen Bacillus vulpinus. Immer muß man bedenken, daß es überhaupt keine absoluten Anaeroben giebt und daß selbst die Nitratgruppe nicht imstande ist, den für alles Leben notwendigen „Reizsauerstoff“ abzugeben, dafür sind größere oder kleinere Quantitäten freien Sauerstoffs unumgänglich notwendig. Eben bei denitrifizierenden Bakterien ist der Nachweis dieses Naturgesetzes von besonderer Leichtigkeit. So z. B. für B. Stutzeri. Wenn man nämlich diese, die Gelatine nicht verflüssigende Art in großer Individuenzahl mit Bouillon, 1 Proz. Kaliumnitratgelatine, welche durch längeres Kochen vollständig sauerstoffrei gemacht ist, vermischt, in einer tiefen Reagentienröhre erstarren läßt, und etwas unterhalb der Schmelztemperatur der Gelatine kultiviert, so wird man sehen, daß in der Tiefe nur im Anfang des Versuches etwas Wachstum und Gasbildung bemerklich sind, welche jedoch alsbald schwinden, während mehr nach oben diese Prozesse regelmäßig weitergehen. Anfangs waren offenbar selbst in der Tiefe noch zureichende Mengen Reizsauerstoff gegenwärtig, die aber alsbald aufgebraucht sind, wobei das weitere Wachstum trotz des reichen Salpetergehaltes unmöglich wird.

Bei dieser Art bemerkt man dann zu gleicher Zeit in der Gelatine in geringer, aber deutlicher Entfernung von der freien Oberfläche ein Niveau, wo die Kolonien kräftiger wachsen wie darüber (kräftiger also wie im Meniskus selbst) und wie darunter, was auf Mikroaërophilie beruht, welche ebenfalls bemerkbar wird durch das Zustandekommen einer „spirillenartigen“ Atmungsfigur bei Bewegungsversuchen mit dem mikroskopischen Präparat in der Glaskammer.

Doch kehren wir zur Denitrifikation selbst zurück. Läßt man, wenn es nicht auf große Genauigkeit ankommt, den Vorgang in einer gewöhnlichen Stöpselflasche verlaufen, so findet zunächst ein Auspressen von Schaum statt, wodurch zwar ein Teil der Flüssigkeit verloren geht, welcher aber

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

durch das Gas ersetzt wird. Wünscht man das Gas zu sammeln, so wird der Glasstöpsel durch einen Kautschukstöpsel mit Gasableiter ersetzt und oberhalb der gesättigten Chlorcaliumlösung aufgefangen.

Als sehr geeignete Kohlenstoffquellen für denitrifizierende Bakterien sind Bouillon einerseits und ferner die Salze der organischen Säuren erkannt, besonders diejenigen mit Kalium, Natrium und Ammon als Basen.

Auch der gewöhnliche Aethylalkohol ist eine gut geeignete Kohlenstoffquelle. Kultiviert man bei Luftabschluß in 100 Leitungswasser, 0,5 Alkohol, 1 KNO_3, 0,05 K_2HPO_4 bei 37° und mit Gartenerde als Infektionsmaterial, so erhält man eine kräftige Denitrifikation, welche bei der Überimpfung (wenigstens im Winter 1909 zu Delft) eine schöne, blaugrüne Flüssigkeit lieferte, worin Bacillus pyocyaneus vorherrschte.

Als weniger geeignet ergaben sich die Kohlenhydrate und die höheren Alkohole. Doch können mit Glyzerin, Mannit und Zellulose sehr kräftige Denitrifikationen erhalten werden, wenn man übrigens geeignete Versuchsbedingungen einführt.

Wenn man z. B. eine Flasche füllt mit Leitungswasser, 2 Proz. Mannit, 1 Proz. KNO_3 und 0,05 Proz. K_2HPO_4, infiziert mit viel Gartenerde und kultiviert bei 37° C, so entsteht nach 24 Stunden eine heftige Denitrifikation mit höchst bemerkenswerten Bakterien. Impft man davon über in die gleiche Nährlösung, so bekommt man jedoch keine weitere Denitrifikation; die ganze, sehr eigentümliche Flora der Rohkultur verschwindet dabei.

Ersetzt man unter übrigens gleichen Bedingungen den Mannit durch 2 Proz. Glyzerin, so erhält man ebenfalls eine heftige Denitrifikation, welche auch bei der Überimpfung wieder hervortritt, jedoch mit beträchtlichen Änderungen in der Flora, verglichen mit derjenigen der Rohkultur.

Wird Zellulose (Filtrierpapier) unter den bezeichneten Bedingungen gegeben, so bekommt man ein Gemisch von zwei Denitrifikatoren, nämlich Bacillus nitrogenes (=B. Stutzeri) und eine eigentümliche, die Zellulose zersetzende Art; doch ist der Vorgang sehr langsam, wenn auch lange dauernd.[1])

Merkwürdigerweise entsteht in allen diesen Fällen kein Wasserstoff.

Verwendet man 2 Proz. Glukose und 1 Proz. KNO_3, so entsteht mit frischer Erde als Impfmaterial eine starke Buttersäuregärung, und die Gärungsgase enthalten neben Stickstoff und Kohlensäure auch Wasserstoff, aber kein Stickoxydul. Eine Überimpfung vertragen solche Gärungen mit Zucker jedoch nicht. Es läßt sich nachweisen, daß in diesen Fällen Ammon aus der Nitratgruppe entsteht, doch findet sich unerwarteterweise in den Gärungsgasen während der zuletzt eintretenden Ammonphase einer solchen „Glukose Nitrat-Denitrifikation“ kein Wasserstoff mehr, dagegen freier Stickstoff, selbst zur Zeit, wo die Nitrat- und Nitritreaktionen schon verschwunden sind.

Weil die Möglichkeit des Zustandekommens der Buttersäuregärung bei Gegenwart von Salpeter nicht uninteressant ist, will ich hier noch folgendes Beispiel anführen: Es wurden aus 2 g Glukose, 2 g Kreide, 1 g KNO_3, 0,05 g $ClNH_4$ und 0,05 K_2HPO_4 in 100 ccm Leitungswasser, bei 37° C in geschlossenen Flaschen kultiviert, mit 2 g Gartenerde als Impfmaterial, vom 14.—16. Juni nahezu 500 ccm Gas gesammelt von der mittleren Zusammenstellung: 53 Proz. CO_2, 32 Proz. H_2 und 15 Proz. N_2. Aus einer ähnlichen

---

[1]) G. van Iterson, Akad. van Wetensch. Amsterdam. Bd. 2. 1903. p. 686. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 11. 1904. p. 689.)

Kultur ohne KNO_3 wurden in derselben Zeit an Gas erhalten ebenfalls ungefähr 500 ccm von der mittleren Zusammenstellung 50 Proz. CO_2 und 50 Proz. H_2. Es waren also im ersteren Falle 75 ccm weniger Wasserstoff und Kohlensäure gebildet wie im zweiten, doch zeigte das mikroskopische Bild in beiden Flüssigkeiten sehr viel Granulobacter, und bei der aëroben Aussaat wurden aus beiden Gärflüssigkeiten Gärungsbakterien aus der Coligruppe erhalten.

Die mit Glukose, Stärke, Rohrzucker und ähnlichen Kohlenstoffquellen erzeugten Buttersäuregärungen sind bei Gegenwart von Nitraten die einzigen bisher bekannten Denitrifikationen, wobei kein Stickoxydul entsteht. Die Frage verdient eine weitere Untersuchung.

Weil beim Fortlassen der Ammonsalze bei diesen Versuchen aus dem Nitrat selbst Ammon gebildet wird, ist der allgemeine Verlauf derselben in beiden Fällen ähnlich, doch erscheint Zufügung des Ammonsalzes geeignet, den Versuch zu vereinfachen.

Verwendet man neben Glukose 8 Proz. KNO_3, so entsteht keine Buttersäure-, sondern eine heftige Nitroxusgärung, und das Gärungsgas enthält keinen Wasserstoff, jedoch ca. 90 Proz. N_2O.

Mit Formiaten (und mit Ureum) ist Denitrifikation, wie es scheint, unmöglich, wenigstens sind bisher alle Versuche in dieser Richtung mißlungen.

Mit 2 Proz. Natriumacetat, 1 Proz, KNO_3 und 0,05 Proz. K_2HPO_4 in Leitungswasser entsteht bei 37° C eine eigentümliche Flora von Sporenbildnern, welche das Überimpfen schlecht verträgt.

Mit Natriumpropionat gelingt die Denitrifikation viel besser. Hat man mit Gartenerde geimpft und impft man über in die gleiche Nährflüssigkeit, so bekommt man eine schön grünblaue Lösung, worin als Hauptdenitrifikator Bacillus pyocyaneus (Delft, 1909).

Ebenso wie Alkohol ist Propionat also eine geeignete Substanz, um letztere Bakterienart in Erde nachzuweisen. Mit freier Stearinsäure erhielten wir im Sommer und Herbst 1908 ein ähnliches Resultat, wie mit Propionat; nicht jedoch im Jahre 1909, obschon auch dann, wie wir sehen werden, B. pyocyaneus auf andere Weise leicht aus Erde zu erhalten war. Es muß also im letzteren Jahre in unserer Umgebung eine andere Varietät dieser Art verbreitet gewesen sein, wie früher.

Als besonders gute Nährsubstanzen für die Denitrifikation ergaben sich die Salze der Citronensäure, Weinsäure und Äpfelsäure; an Artenreichtum zeichneten sich die Seignettesalzkulturen (Kaliumnatriumtartrat) aus. So erhielten wir aus 5 Proz. Lösung dieses Salzes mit 2 Proz. KNO^3, unter den schon mehrfach genannten Bedingungen gärend, bei der Aussaat auf Fleischbouillonagar nicht weniger wie 5 Denitrifikatoren, worunter B. pyocyaneus, B. nitrogenes (in 2 Varietäten), eine Varietät von B. vulpinus und ein früher noch nicht beobachteter Micrococcus; daneben noch ein paar Arten, welche nicht denitrifizierten.

Anderseits gelang es[1]), durch die Verwendung von 2 Proz. Calciumtartrat und den relativ hohen Salpetergehalt von 2 Proz., aus Kanalwasser bei der Temperatur von 28° und durch wiederholtes Überimpfen zu einer sehr weit gehenden „Reinigung“ der Kultur und schließlich beinahe zu einer Reinkultur zu kommen von B. nitrogenes (B. Stutzeri)[1], wobei sowohl der Kalk als auch der hohe Nitratgehalt, weil für viele Bakterien schädlich, als „reinigende" Faktoren zu betrachten sind.

---

[1]) G. van Iterson, Ophoopingsproeven met denitrificeerende Bakteriën. (Verhand. Akad. v. Wetensch. Amsterdam. Deel. 11. 1903. p. 3.)

Wie gut die Denitrifikatoren des Meeres sich durch Calciummalat anhäufen lassen, zeigte Herr Gran[2]).

Was sich mit Ammoncitrat und Salpeter bei 37° erreichen läßt, ist in der klassischen Untersuchung von Gayon und Dupetit (l. c.) ausführlich gezeigt.

Von stickstoffhaltigen Kohlenstoffquellen sind außer Pepton die folgenden für unseren Zweck bemerkenswert: Zunächst die Harnsäure und das Asparagin, welche sich besonders gut eignen für die Anhäufung bei 37° des so vielseitigen und so allgemein verbreiteten Bacillus pyocyaneus. Die Überimpfungen in der Asparaginlösung (0,05 Proz. Asparagin, 1 Proz. KNO_3, 0,5 Proz. K^2HPO_4) schlagen jedoch bisweilen fehl. Auch kann es vorkommen, daß sie sich sehr schön rot färben, ohne sich stark zu trüben. Obschon die Reaktion solcher Kulturflüssigkeiten alkalisch bleibt, erhält man daraus auf Platten Reinkulturen von B. pyocyaneus. Weil das Pyocyanin sich zwar rot färbt mit Säuren, jedoch blau bleibt mit Alkalien, muß der hier gebildete Farbstoff von Pyocyanin verschieden sein (Pyoerythrin).

Ferner muß hier das Glykokoll genannt werden, wovon 2,5 Proz. mit 1 Proz. Salpeter mit Gartenerde bei 37° wundervolle zoogloen- oder sarcineartige Bakterienklumpen liefert, welche wahrscheinlich zu der sporenbildenden, unter diesen Bedingungen sich gänzlich deformierenden Art gehören, welche später als Bacillus nitroxus besprochen werden soll, woneben sich aber auch noch andere Arten entwickeln.

Auch 0,5 Proz. Alanin mit 1 Proz. KNO_3 ist für Denitrifikation bei 37° ausgezeichnet und interessant wegen der gemischten, an Sporenbildnern reichen Flora.

In einer 0,5 Proz. Glukosaminlösung mit 1 Proz. KNO_3 und Gartenerde als Impfmaterial entstand bei 37° C zu unserer Überraschung eine heftige Granulobactergärung. Die prächtigen, plumpen, stark beweglichen Stäbchen färbten sich mit Jod, nur mit Ausnahme eines Poles tiefblau. Beim Überimpfen in gleicher Lösung entwickelte sich, gemäß der Erwartung, überhaupt keine weitere Gärung.

Manche dieser Angaben beziehen sich auf noch nicht gänzlich durchgearbeitete Versuchsreihen, und werden hier nur angeführt, weil es Typen sind, wovon jeder in verschiedenen Richtungen einiges Interesse hat.

Als besonders geeignet für Denitrifikationsversuche haben die verschiedensten Autoren Nitrat-Bouillon erkannt, wobei entweder Fleisch oder andere tierische Substanzen für die Anfertigung verwendet wurden. Auch wir haben wegen verschiedener Ursachen eben damit experimentiert, und zwar besonders deshalb, weil man aus der Literatur den Eindruck bekommt, daß daraus kein Stickoxydul gebildet wird, und dieses Gas nur unter ganz besonderen Bedingungen aus Ammoncitrat-Asparagin-Nitrat entstehen sollte. Wir haben aber, dieser Auffassung ganz entgegengesetzt, gefunden, daß die Nitrat-Bouillon wohl die vorzüglichste Nährlösung ist, um den Vorgang der Stickoxydulbildung zu studieren.

---

[1]) Migula, System der Bakterien. Bd. 2. 1900. p. 793. (Bacillus nitrogenes). Lehmann und Neumann, Bakteriologische Diagnostik. p. 237. 1906 (Bacillus Stutzeri).

[2]) Studien über Meeresbakterien. I. (Bergens Aarbog. 1901. No. 10.)

Der Bakterienzustand in den angeführten Rohkulturen ist außerordentlich verschieden, und, wie gesagt, noch nicht vollständig durchgearbeitet. Folgende Regel läßt sich mikroskopisch nachweisen als allgemein zutreffend: Bei einem Nitratgehalt von 5 Proz. bis 12 Proz. herrschen, bei den beschriebenen Bedingungen, sowie auch in Nitratbouillon bei 37° längere, bewegliche, sporenbildende Stäbchen vor, welche zu mehreren nahe verwandten Arten oder Varietäten zu bringen sind, die den anaëroben Keimen der eigentlichen stinkenden Eiweißfäulnis sehr nahe stehen. Bei einem geringeren Salpetergehalt, von z. B. 0,1 Proz. à 1 Proz. und bei niederer Temperatur, zeigt das mikroskopische Bild zwar in der Rohkultur mit Bouillon, wenigstens im Anfang der Kultur, ebenfalls Sporenbildner, doch in den Überimpfungen und in den Kulturen mit Laktaten, Malaten, Tartraten und Citraten als Kohlenstoffquellen wohl unter allen Bedingungen vorwiegend schnell bewegliche, kleine Stäbchen, während die Sporenbildner dabei zurücktreten.

Das Resultat der Kulturversuche nach dem Plattenverfahren zeigt, daß die Flora in allen Fällen, wobei wenig Nitrat gebraucht wird, außer den eigentlichen denitrifizierenden, auch einige nicht denitrifizierenden Arten, und zwar die letzteren scheinbar in Mehrheit oder großer Mehrheit enthält, woraus jedoch in Verbindnug mit genauer mikroskopischer Untersuchung geschlossen werden muß, daß die in Betracht kommenden denitrifizierenden Bakterien auf unseren Platten nur zum kleinen oder sehr kleinen Teil Kolonien erzeugen.

Bei jedem verschieden angeordneten Versuche ist die Artenzahl im ganzen ziemlich gering, meistens herrscht dabei nur eine wohl und eine nicht denitrifizierende Art vor. Unter sehr günstigen Ernährungsbedingungen ist die Artenzahl größer, wovon wir ein Beispiel kennen lernten in dem Seignettesalz (Kaliumnatriumtartrat), welches eine besonders gute Kohlenstoffquelle ist.

Weil es schwer ist, aus den Rohkulturen zu einer bestimmten Ansicht bezüglich der Verbreitung und Allgemeinheit der Denitrifikatoren in den Rohmaterialien zu kommen, haben wir viele Versuche gemacht zu einer direkten Erkennung der Kolonien dieser Bakteriengruppe auf den Kulturplatten, wobei wir sowohl die Alkali- wie die Gasbildung als charakteristische Reaktion für das Auffinden derselben zu verwenden suchten, allein bisher vergebens. Vorläufig sind wir deshalb auf Anreicherungen in bestimmten Nährlösungen angewiesen, wobei festgestellt wird, mit welcher Minimumquantität Impfmaterial noch Denitrifikation zu erhalten ist.

2. Bildung von Stickoxydul in den Rohdenitrifikationen.

Von der reichlichen Bildung von Stickoxydul, welche bei gut eingerichteten Versuchen stattfindet, kann man sich auf folgende einfache Weise überzeugen:

Man fülle eine gutschließende Stöpselflasche mit eingeschliffenem Glasstöpsel von ca. 200 ccm gänzlich mit Fleischbouillon, welche mit 8 Proz. Kaliumnitrat versetzt ist, und infiziere mit einer reichlichen Menge Gartenerde, z. B. 10 oder 20 g. Stellt man die Flasche dann bei 37°, so findet man am anderen oder am nächstfolgenden Tage, daß durch ein sehr starkes Bakterienwachstum eine profuse Schaumbildung stattgefunden hat und ein beträchtlicher Teil der Kulturflüssigkeit zwischen Halswand und Stöpsel der Flasche durch einen eigentümlichen Kapillarprozeß nach außer befördert ist, während der dadurch freigewordene Raum sich mit dem Gärungsgase angefüllt hat,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

indem der lose aufgesetzte, aber dennoch gut anschließende Stöpsel, infolge des inneren Druckes, wohl Flüssigkeit aus-, jedoch keine Luft hineingelassen hat. Das Gas ist ein Gemisch von Stickoxydul, Stickstoff und Kohlensäure, während der 24 ersten Stunden gewöhnlich mit weniger, nach 48 Stunden und später, in dem hier betrachteten Falle mit ca. 90 Proz. Stickoxydul. Wird die Flasche vorsichtig geöffnet und ein glühender Holzspan hineingebracht, so sieht man denselben sich plötzlich entzünden. So lange noch genügend Nitrat und organische Nahrung vorhanden sind, um die Gärung lebhaft im Gange zu halten, kann dieser Versuch mit gleichem Erfolge wiederholt werden, jedoch verringert sich der Gärvorgang infolge der Alkalikarbonat-Bildung.

Erhöht man den Salpetergehalt der Bouillon auf 10 Proz., ja auf 12 Proz., so ist der Verlauf des Versuches derselbe, wie bei 8 Proz. Vermindert man diesen Gehalt dagegen auf 5 Proz., 2 Proz. oder 1 Proz., so vermindert sich der Gehalt der Gärungsgase an Stickoxydul bis auf ca. 50 Proz., mit gleichzeitiger Zunahme des Stickstoffgehaltes, so daß es nahe liegt, anzunehmen, daß zwar zuerst Stickoxydul entsteht, daß dieses aber unter Sauerstoffabgabe sich weiter reduziert, eine Ansicht, welche, wie wir später sehen werden, im allgemeinen sicher richtig ist. Bekanntlich entstehen die Gärungsgase ausschließlich aus der Nitratgruppe, während die Amid- und die Ammongruppe nicht angegriffen werden. Ersetzt man das Kaliumnitrat durch Ammonnitrat, so verändert sich deshalb der Verlauf des Versuchs nicht. Der naheliegende Gedanke, es könnte in diesem Falle eine katalytische Spaltung des Ammonnitrats zu Stickoxydul und Wasser zu stande kommen, ergibt sich also als unrichtig. Ebensowenig findet unter dem Einfluß der Mikroben eine Katalyse von Ammonnitrit unter Abspaltung von freiem Stickstoff statt.

Dennoch kann die Verwendung von Ammonnitrat nützlich sein, wenn es sich darum handelt, der schädlichen Beeinflussung des Denitrifikationsprozesses durch das Alkali, welches dabei entsteht, vorzubeugen. Aus dem Ammoncarbonat kann nämlich durch Hinzufügung des schwer löslichen und an sich unschädlichen Magnesiumhydrophosphats ($MgHPO_4 . 2H_2O$) das Ammon als unlösliches NH_4MgPO_4 präzipitiert werden, während die Kohlensäure entweicht, was bei den fixen Carbonaten nicht gelingt[1]).

Bestimmt man den Gehalt an Stickoxydul in den Gärungsgasen der früher in kursorischer Übersicht genannten Denitrifikationen, so findet man, daß dieser Körper nur mit einer Ausnahme stets vorhanden ist, wenn auch in sehr wechselnden Mengenverhältnissen. Die Ausnahme betrifft die denitrifizierenden Buttersäuregärungen, wobei neben Kohlensäure und Wasserstoff nur Stickstoff entsteht. Wir sehen also, daß es sich bei dem Stickoxydul um einen Körper handelt, welcher im Denitrifikationsprozesse sehr oft ein ebenso wichtiges und in gewissen Fällen ein viel wichtigeres Produkt ist, wie der Stickstoff selber. Es muß daher sehr auffallend erscheinen, daß Gayon und Dupetit die Haupteinteilung ihrer Arbeit darauf gründen, daß nur bei der gleichzeitigen Verwendung von Ammoncitrat und Asparagin als Kohlenstoffquelle Stickoxydul entsteht und niemals anders. Bei ihren zahlreichen Versuchen mit Bouillon sollte das Gas sich nicht gebildet haben. Wie dieser vollständige Widerspruch mit unseren Resultaten zu erklären ist, und wie es möglich ist, daß so gute Beobachter sich derweise irren konnten, wird sich später ergeben.

---

[1]) Liebert, Akad. van Wetensch. Amsterdam, 6. Mei 1909. p. 990.

3. Beispiele von Analysen des Gases der Rohdenitrifikationen.

Weil es sich also herausgestellt hat, daß die bisherige Auffassung des Denitrifikationsprozesses gewissermaßen eine prinzipielle Veränderung erfahren muß, erscheint es angemessen, einige unserer Versuche genauer zu beschreiben, um die quantitativen Verhältnisse für verschiedene Fälle zu beleuchten.

In einem Versuche mit Fleischbouillon (20 g Ochsenfleisch, 100 g Wasser viele Stunden gekocht und digeriert) mit 1 Proz. NH_4NO_3, infiziert mit viel Gartenerde, welche zuvor 3 Minuten lang mit Wasser gekocht war, um allein die Sporenbildner in Kultur zu bekommen, entwickelte sich bei 37° schon nach 24 Stunden viel Gas, welches am 2. Kulturtage 25 Proz., am 3. Tage 75 Proz. N_2O enthielt. Beim Mikroskopieren waren nur längere, teilweise zu Clostridien angeschwollene Stäbchen nachweisbar; viele davon enthielten mittelständige Sporen. In viel geringerer Zahl waren Stäbchen mit terminalen Sporen zu finden. Wir konnten nicht daran zweifeln, daß es sich hierbei der Hauptsache nach um den sporenbildenden Denitrifikator Bacillus nitroxus mit seinen Nebenarten handelt, welcher später näher betrachtet werden wird.

Bei einem anderen Versuche wurde frische Erde als Infektionsmaterial in Fleischbouillon mit 5 Proz. NH_4NO_3 gebracht und am 3. Tage nach der Impfung, als die Gasbildung infolge der alkalischen Reaktion sich verzögerte, mit $MgHPO_4$ versetzt, zur Bindung des Ammonkarbonates. Mikroskopisch wurden nur lange, bewegliche Stäbchen gefunden, teilweise schon mit Sporen, Nichtsporenbildner fehlten. Trotzdem das Impfmaterial weder gekocht, noch pasteurisiert war, steht es fest, daß auch in diesem Falle unser B. nitroxus im weiteren Sinne die Hauptrolle spielte.

Aus der ganzen verwendeten Ammonnitratmenge (nämlich 12,5 g) hätten sich 1750 ccm Gas, als Stickstoff oder als Stickoxydul berechnet, entwickeln können, weil 1 g NH_4NO_3 140 ccm N_2 erzeugen kann, wenn die NO_3-Gruppe gänzlich spaltet und die NH_4-Gruppe unverändert bleibt.

Im ganzen wurden an Gas aufgefangen 859 ccm, wovon die Zusammensetzung aus folgender Tabelle hervorgeht:

Datum	Gas im ganzen in ccm	N_2O in ccm	N_2O in %	CO_2 in ccm	CO^2 in %	N_2 in ccm	N_2 in %	Frische Erde in Bouillon mit 5% NH_4NO_3 bei 37° C.
15. Juni Beginn								Beginn der Kultur.
16. „	30	18	60	8	27	4	13	
17. „ Morgen	161	88,5	55	67,6	42	4,9	3	Mit $MgHPO_4$ in
17. „ Mittag	178	46,4	26	124,6	70	7	4	Überschuß versetzt,
18. „	180	75,6	42	100,8	56	3,6	2	weil die Gasbildung
19. „	198	179,2	88	18,8	12	0	0	sich verzögerte und
21. „	88,5	71,7	81	7,1	8	9,7	11	dadurch wieder be-
22. „	24	19,4	81	1,9	8	2,7	11	schleunigt.
Total	859	498,8	58	328,8	383	31,9	3,7	

Aus diesem Versuche sieht man, daß die Denitrifikation durch die Sporenbildner in Rohkultur nur ganz wenig freien Stickstoff, nämlich 3,7 Proz., dagegen sehr viel N_2O, nämlich 58 Proz., erzeugt hat, während das übrige Gas aus Kohlensäure bestand. Stickoxyd war nicht gegenwärtig. Überhaupt haben wir dieses letztere Gas bei keinem der hier beschriebenen Versuche gefunden, wohl deshalb, weil wir nur bei neutraler oder alkalischer Reaktion arbeiteten (Vergl. S. 33 letzte Alinea).

Wenn man viel weniger Ammonnitrat oder Kaliumnitrat verwendet und eben wie im vorigen Versuche mit viel frischer Erde impft, so vermindert sich das Stickoxydul, während der freie Stickstoff sich vermehrt, wie aus folgendem Versuche hervorgeht. Es wurden am 5. Juni 1909 250 ccm Fleischbouillon mit 2,5 g NH_4NO_3 (also 1 Proz.) in geschlossener Flasche mit frischer Gartenerde geimpft und bei 37° kultiviert; die Gasbildung war wie folgt:

	Gas im ganzen in ccm	N_2O in ccm	NO_2 in %	CO_2 in ccm	CO_2 in %	N_2O in ccm	N_2 in %	Frische Erde in Bouillon mit 1 % NH_4NO_3 bei 37°.
7. Juni	200	168	84	14	7	18	9	Der Versuch beginnt 5. Juni.
8. „	64	41	64	20	3	21	33	
10. „	22	1	5	0,9	4	20	21	
Total	286	210	73,7	16,9	58%	59	20,5	Hätte 350 ccm Gas als N_2 oder N_2O geben können.
7. Juni, Überimpfung								Wurde am 7. Juni übergeimpft in dieselbe Nährlösung, jedoch mit nur 2 g NH_4NO_3, welche also 280 ccm Gas als N_2 hätte geb. könn.
8. Juni	99	24,3	25	7,3	7,5	65,5	67,5	
9. „	100	22,5	22,5	5	5	72,5	72,5	
10. „	33	3,3	10	1	3	28,7	8	
Total	230	50,1	21,8	13,3	5,7	166,7	7,25	

Hieraus sieht man, daß das Gas im Anfang 73,7 Proz. N_2O, nach der Überimpfung nur noch 21,6 Proz. N_2O enthielt, während der Stickstoffgehalt dabei von 20,5 Proz. auf 72,5 Proz. gestiegen war.

Mikroskopiert man diese und ähnliche bei 37° geführte Gärungen, so findet man, daß darin neben vielen Sporenbildnern sehr viele kleine, nicht sporenbildende Bakterien vorkommen, welche letztere bei der Überimpfung stark an Zahl sich vermehren.

Wir glauben aus diesen und ähnlichen Versuchen schließen zu müssen, daß selbst bei der Verwendung von nur 1 Proz. Nitrat in Bouillon bei der Impfung mit viel frischer, nicht pasteurisierter Gartenerde in der Rohkultur zunächst nur B. nitroxus zur Entwicklung gelangt, obschon das Nährmedium für andere denitrifizierende Arten günstiger ist, was, allem Anscheine nach, zu dem bemerkenswerten Resultate führt, daß unsere sporenbildende Nitroxusgruppe die in Gartenerde bei weitem am allgemeinsten verbreiteten Denitrifikatoren umfaßt, weil sie anders sofort, das heißt schon in der Rohkultur, ihren Konkurrenten Platz machen müßten.

Weil man meinen könnte, daß in den vorhergehenden Versuchen die bekannte Spaltung des Ammonnitrats in Stickoxydul und Wasser, welche durch Erhitzung stattfindet, auch durch die Mikroben hervorgerufen werden könnte, erinnere ich zunächst an die schon erwähnte Erfahrung, daß bei allen früher untersuchten Denitrifikationen das Ammon der Nährlösung nach Beendigung der Denitrifikation quantitativ zurück gefunden wird. Für unseren speziellen Fall wünsche ich die Richtigkeit dieser Ansicht noch durch ein paar besondere Beispiele zu erläutern, welche zeigen, daß das Stickoxydul in gleicher Menge aus Kalium- oder Natriumnitrat, wie aus Ammonnitrat entsteht. Als erstes Beispiel nehme ich den Fall von Fleischbouillon mit 1 Proz. KNO_3, infiziert mit frischer Gartenerde bei 37°, wobei anfangs wieder nur Sporenbildner, später auch viele kleine Nichtsporenbildner auftreten. Die Gase hatten folgende Zusammensetzung:

Beginn	Datum	Gas im ganzen in ccm	N_2O in ccm	N_2O in %	CO_2 in ccm	CO_2 in %	N_2 in ccm	N_2 in %	
15. Juni	17. Juni	192	146	76	11,5	6	33,5	18	**Pro g KNO_3 entsteht 112 ccm_3 N_2. Verwendet 2 g KNO kann also 224 ccm ergeben.**
	18. „	54	13	24	—	40	41	76	
Total		246	159	64,6	11,5	4,7	75,5	30,7	

Wie man sieht, ist auch hier das Gas größtenteils Stickoxydul. Daß im ganzen 246 ccm Gas entstanden ist, also 22 ccm mehr, wie überhaupt an Stickstoff (oder Stickoxydul) würde gebildet werden können, muß für die Hälfte auf Kohlensäure zurückgeführt werden. Wasserstoff fehlte gänzlich.

Bei der Aussaat dieser Kultur auf Fleischagar entwickelte sich massenhaft eine der gewöhnlichen Begleitbakterien der denitrifizierenden Arten, während die letzteren selber auf den Platten ohne ganz bestimmtes Anhäufungsverfahren oft nur in geringer Zahl aufkommen. Diese Denitrifikatoren gehörten auch in diesem Falle der Nitroxusgruppe an. Die nicht denitrifizierende Begleitbakterie ergab sich als zur Coligruppe gehörig und als starker Gärungserreger in Glukose-Peptonlösung bei 37°. Übrigens werde ich auf das Verhalten der Gärungserreger bei der Denitrifikation noch zurückkommen.

Als anderes Beispiel wählen wir einen Versuch mit Bouillon mit 8 Proz. KNO_3, geimpft mit viel frischer Erde und geführt bei 37° C.

Das Gas war wie folgt zusammengesetzt:

Beginn	Datum	Gas im ganzen in ccm	N_2O in ccm	N_2O in %	CO_2 in ccm	CO_2 in %	N_2 in ccm	N_2 in %
19. Juni	21. Juni	160	118,5	74	22,4	14	19	12
	22. „	88	81	92	3.5	4	3,5	6
	24. „	66	58	89	1,3	2	6,6	10
	25. „	21	18,5	88	0,4	2	2	10
	1. Juli	30	25	83	1,6	0,5	4,5	15,4
Total		365	301,0	35,2	29,2	4,5	35,1	10,7

Die so große Menge von N_2O schon von Anfang an muß bei diesem Versuche nicht nur aus dem hohen Salpetergehalt, sondern auch daraus erklärt werden, daß nur ganz allein durch Sporenbildner denitrifiziert wurde. Bezüglich des zuerst gesammelten Gases muß bemerkt werden, daß wenigstens im Anfang relativ viel Kohlensäure gelöst bleiben kann. Mit einem noch höheren Salpetergehalt, nämlich 12 Proz., gelingt der Versuch noch beinahe ebenso gut, doch nähert man sich dabei dem Grenzwert. Vergleicht man nun diese Zahlen mit den mit Ammonnitrat erhaltenen, so sieht man aufs neue, daß die Ammongruppe an sich beim Denitrifikationsvorgange nicht in Betracht kommt. Dasselbe gilt bezüglich der Amido- und Aminogruppen, wie sie sich in Pepton, Harnsäure, Ureum und Asparagin finden, doch erscheint es unnötig, dabei länger zu verweilen.

Die Entstehung eines Gasstromes, welcher tagelang dauert, sich konstant auf einem Gehalt an Stickoxydul von 88 Proz. bis 92 Proz. hält, und das durch einen so einfachen Versuch, scheint mir ein bemerkenswertes biologisches Resultat, und man sieht aus dem Vorgehenden, wie ungerecht es ist, daß in den neueren Arbeiten über Denitrifikation das Stickoxydul überhaupt nicht berücksichtigt wird.

4. Welche waren die Bakterien α und β von Gayon und Dupetit?

Obschon die Beantwortung dieser Frage an und für sich von untergeordneter Bedeutung scheint, kommen wir darauf dennoch kurz zurück, weil die Erwägung derselben zur Aufdeckung eines Fehlers in der übrigens so ausgezeichneten Abhandlung der genannten Autoren veranlaßte, welcher für unseren Zweck notwendigerweise aufgeklärt werden muß.

Wie oben in der Einleitung gesagt, sollen die Mikroben α und β von Gayon und Dupetit sich dadurch von einander unterscheiden, daß α wohl und β nicht imstande ist, Stickoxydul zu erzeugen in einer wie folgt zusammengesetzten Lösung: 1000 g Wasser, 10 g Kaliumnitrat, 7 g Zitronensäure, 5 g Asparagin, 5 g Kaliumphosphat, 5 g Magnesiumsulfat, 0,5 g Chlorcalcium, Spuren von Aluminiumsulfat, Ferrosulfat und Natriumsilikat, neutralisiert mit Ammon, während sie in ihren Fleischbouillonkaliumnitratlösungen nichts von der Bildung von Stickoxydul bemerkt haben, weder durch α noch β. Da nach unserer Erfahrung alle denititrifizierenden Bakterien in allen Nährlösungen sowohl Stickstoff wie Stickoxydul, wenn auch in sehr wechselnden Mengen, erzeugen, kann diese Angabe unmöglich richtig sein. Wie kann es denn erklärt werden, daß die Autoren bei ihrem Mikroben β überhaupt kein Stickoxydul fanden, bei ihrem Mikroben α nur dann, wenn in ihrer Ammoncitrat-Nitratlösung noch überdies Asparagin vorkam, und daß sie die Einteilung ihrer Arbeit gründen konnten auf das Fehlen des Oxyduls bei allen Versuchen mit Bouillon?

Um darauf zu antworten, müssen wir die weitere Frage aufwerfen, auf welche Weise Gayon und Dupetit 1886 das Stickoxydul neben dem Stickstoff nachgewiesen haben. Die Autoren sagen nichts über die dabei befolgten Methoden. Doch steht es für uns fest, daß eben darin die Erklärung ihrer Angaben gelegen sein muß. Wir sind nämlich überzeugt, daß sie ihre quantitative Bestimmungen ausgeführt haben vermittelst des Explosionsverfahrens durch den elektrischen Funken nach der Vermischung des Gases mit Wasserstoff, obschon die Methode der Explosion mit Knallgas schon seit 1877 in Verwendung war[1]). Dagegen dürfte die Verbrennung in der Platinkapillare erst im Jahre 1888 in Gebrauch gekommen sein, wenn auch schon seit 1877 bekannt[2]).

Als wir unsere eigenen Versuche begannen, befolgten wir ebenfalls die Explosionsmethode mit Wasserstoff, und kamen bald zu dem auffallenden Resultat, daß unsere denitrifizierenden Bakterienkulturen Gasgemische erzeugten, worin entweder mehr als 25 Proz. oder gar kein N_2O vorkam. Wir kamen dadurch zur Ansicht, daß bei unserer Versuchseinrichtung ein Gas, welches weniger als 25 Proz. N_2O enthielt, nach dem Vermischen mit dem gleichen Volum Wasserstoff nicht mehr explodieren konnte. Es stellte sich heraus, daß diese Ansicht der Hauptsache nach richtig ist; zwar konnten mit größeren Funken noch etwas geringere Mengen N_2O wie 25 Proz. des gesamten Gases zur Explosion gebracht werden, doch lag die Grenze nicht weit von dieser Zahl. Das war denn auch die Ursache, daß alle unsere späteren Versuche mit der Platinkapillare stattfanden, und Gayon und Dupetit, welche, aller Wahrscheinlichkeit nach nur die Wasserstoffmethode befolgten, haben offenbar nicht bemerkt, daß dieselbe bei der Gegenwart von weniger als ca. 25 Proz. N_2O nicht mehr zu verwenden ist.

---

[1]) Bunsen, Gasometrische Methoden. 1877. Hempel, Berichte der d. Chem. Gesellschaft. 1882. p. 903.

[2]) Orsat, Note sur l'analyse industrielle des Gas. Paris 1877. Drehschmidt, Berichte der d. Chem. Gesellsch. Bd. 23. 1888. p. 3295.

Durchblicken wir nämlich ihre Zahlen, so ergibt sich, daß diese Forscher in den 8 von ihnen gegebenen Gasanalysen, wobei N_2O gefunden wurde, die folgenden Prozentzahlen an diesem Gase fanden: 49 Proz., 40,96 Proz., 41,09 Proz., **16,55** Proz., 75,75 Proz., 47,68 Proz., 31,83 Proz., 23,23 Proz. Hiervon scheint nur die Zahl 16,55 Proz. auf den ersten Blick unserer Hypothese zu widersprechen. Aber dieses nur scheinbar, denn es wurden neben dieser Quantität Stickoxydul 23,10 Proz. Kohlensäure und 60,35 Proz. Stickstoff gefunden. Weil nun der Wasserstoff erst dann mit dem Gase gemischt wird, wenn die Kohlensäure entfernt ist, muß man das Stickoxydul nicht in Prozenten auf das Gesamtgas berechnen, sondern in Prozenten auf dasselbe nach Abzug der 23,10 Proz. Kohlensäure, sodaß, wenn auf 76,9 ccm Gas 60,35 cmm N_2 und 16,55 ccm N_2O gefunden werden, das dann doch jedenfalls auf 21,5 Proz. N_2O auskommt, offenbar die untere Grenze, welche die Autoren noch auffinden konnten, und sehr nahe gelegen bei unserer Minimumzahl von ca. 25 Proz. Alle Quantitäten weniger wie 21,5 Proz. N_2O sind Gayon und Dupetit also entgangen, wodurch sie zu dem Schlusse kamen, daß ihr Mikrobe β überhaupt kein N_2O erzeugt, und ihr Mikrobe α, dieses Gas nur dann liefert, wenn kultiviert in ihrer Ammoncitratlösung bei Gegenwart von Asparagin.

Diese Behauptungen sind folglich beide unrichtig und müssen derweise korrigiert werden, daß bei allen ihren Versuchen α und β beide, eben wie bei uns, unzweifelhaft stets Stickoxydul gebildet haben, doch daß sie dieses Gas erst nachweisen konnten, sobald dessen Gehalt 16,5 Proz. des Gesamtgases oder 21,5 Proz. des Gases nach Abzug der Kohlensäure betrug. Weil nun bei keinem ihrer Versuche durch Mikroben β 16,5 Proz. N_2O gebildet wurden, sondern immer weniger, so mußten sie glauben, daß derselbe überhaupt kein N_2O erzeugte, und weil ihr Mikrobe α nur bei Gegenwart von Asparagin in ihrer Ammoncitrat-Nitratlösung mehr als 16,5 Proz. N_2O erzeugte, meinten sie, daß dadurch ohne Asparagin überhaupt kein Stickoxydul entsteht.

Fragen wir uns nun schließlich, mit welchen der gegenwärtig bekannten denitrifizierenden Arten die Mikroben α und β von Gayon und Dupetit zusammenfallen, so betrachten wir es als wahrscheinlich, daß α nur Bacillus pyocyaneus, β nur Bacillus Stutzeri (= B. nitrogenes) gewesen sein kann; doch erscheint die Sache nicht wichtig genug, um die dafür aus den Details ihrer Untersuchung abzuleitenden Gründe hier ausführlich zu besprechen, um so mehr, weil es feststeht, daß ihre Kulturen nicht rein waren.

Anhangsweise wünsche ich bei dieser Gelegenheit noch hervorzuheben, daß die vielfach zitierten, aber ganz ungenügenden Versuche von Giltay und Aberson mit einer die Kulturgelatine verflüssigenden Art ausgeführt wurden, welche, wie aus einigen incidentellen Bemerkungen in ihrer Abhandlung abzuleiten ist, wohl Bacillus pyocyaneus gewesen sein kann, was jedoch bei ihren unzureichenden Angaben durchaus zweifelhaft bleiben muß. Daß diese Autoren kein Stickoxydul gefunden haben, welches bei ihren Versuchen doch sicher gebildet ist, ist daraus zu erklären, daß sie zum Nachweise dieses Gases die Löslichkeit desselben in Alkohol in Anwendung zu bringen versuchten, also wohl die schlechteste Methode, die überhaupt gewählt werden konnte. Das einzige, was sie bezüglich des Stickoxyduls (und des Wasserstoffs) sagen, lautet wörtlich:[1] „De l'absence d'hydro-

---

[1] Sur un mode de dénitrification. (Archives Néerlandaises. T. 25. 1892. p. 356.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

gène nous nous sommes assurés en faisant jaillir dans le gaz, préalablement mêlé d'oxygène, des étincelles électriques. L'absence d'hémioxyde d'azote fut constatée, dans quelques analyses, en abandonnant le gaz dégagé, après absorption de l'acide carbonique par la potasse solide, au dessus de l'alcool, dans lequel le gaz hilarant se dissout facilement". Daraus kann der Leser jedoch unmöglich eine Überzeugung erhalten.

5. Bacillus sphaerosporus und Bacillus nitroxus.

Bei unseren oben beschriebenen Versuchen mit Nitratbouillon haben wir gesehen, daß in allen Rohkulturen bei weitem die größte, in vielen Fällen wohl die gesamte Menge des Stickoxyduls durch Sporenbildner hervorgebracht wird. Es soll auf diese letzteren nun näher eingegangen werden.

Sporenbildende, in den Reinkulturen schwach denitrifizierende Arten sind schon seit langer Zeit bekannt und, wenn auch unkenntlich, in der Literatur verzeichnet. Als ich noch meinte, daß dadurch allein Stickstoff erzeugt wurde, konnten dieselben nur als weitere Beispiele der langen Reihe denitrifizierender Arten angesehen werden. Seitdem sich jedoch ergab, daß eben die Sporenbildner so außerordentlich geeignet sind Versuche bezüglich der Stickoxydulbildung anzustellen, erregen sie ein viel höheres Interesse. Es mögen deshalb die Bedingungen ihres Vorkommens und die Methoden zur Erhaltung derselben, sowie ihre weiteren Eigenschaften näher besprochen werden.

Obschon bei den Denitrifikationsversuchen im allgemeinen, wobei Sporenbildner die Erreger sind, eine kleine Anzahl verschiedener „guter" Arten in betracht kommen dürfte, handelt es sich bei Nitratbouillon wohl nur um eine einzige umfangreiche „Sammelart", eine Formengruppe zahlreicher Typen, wovon wir an dieser Stelle zwei mit besonderen Artnamen belegen wollen, und welche nicht richtig aufgefaßt werden können, wenn man die Denitrifikationsvorgänge allein als Grundlage für elektive Kultur verwendet. Um die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den sehr abweichenden, hier zur Beobachtung kommenden Unterarten und Varietäten zu verstehen, ist es nötig, erstens auch die Eiweißfäulnis als Ausgangspunkt für die Kultur zu wählen und mit einiger Beharrlichkeit die daraus zu isolierenden Aëroben auf ihr Denitrifikationsvermögen zu untersuchen, und zweitens, die zugleich an Acetate und an hohe Temperaturen adaptierten Formen in betracht zu ziehen.

Für das Erste wird in Wasser gelöstes und suspendiertes Eiweiß mit Gartenerde infiziert, zum Sieden gebracht, eine Stöpselflasche mit dieser Flüssigkeit gefüllt, oder auch ein offener Kolben und bei 30—37° gebrütet. Nach ein paar Tagen beginnt die stinkende Fäulnis mit denselben Erscheinungen, wie ohne vorheriges Kochen, aber natürlich auch ohne die nicht sporenerzeugenden Arten, welche also für den Hauptvorgang gleichgiltig sind[1]). Die eigentliche Fäulnis wird also allein durch die sporenbildenden Anaëroben hervorgerufen, daneben finden sich aber sehr bemerkenswerte, oft rundsporige Aëroben, wovon wir eine besonders allgemeine und morphologisch interessante unter dem Namen **Bacillus sphaerosporus**, gleich betrachten werden. Auch die Anaëroben selbst sind zum Teil ebenfalls rundsporige

---

[1]) Die von Hauser als Fäulnisbakterien beschriebenen Proteusarten können überhaupt nicht als eigentliche Fäulniserreger betrachtet werden, weil es nur Halbanaëroben sind (wie Coli) und weil sie die eigentlichen widerlichen Fäulnisprodukte (Skatol und Merkaptan) nicht erzeugen.

Formen und unzweifelhaft nahe verwandt mit B. sphaerosporus, indem es feststeht, daß die ersteren dann und wann, bei noch unbekannten Bedingungen, die rundsporige aërobe Varietät abwerfen, welche nicht wieder in den anaëroben Zustand zurückzuführen ist und sich vergleichen läßt mit den asporogenen Sektorvarianten anderer Bakterien, worüber wir noch sprechen werden bei B. nitroxus. Natürlich ist es nicht leicht, diese versteckte Form der Variabilität zu erkennen, und bei der Seltenheit der Erscheinung denkt der Anfänger leicht an Infektion.

Jedoch gibt es keine Schwierigkeit, die hier in betracht kommenden Aëroben aus den Rohanhäufungen zu isolieren, weil sie erblich konstant sind und von Anfang an reichlich in der Eiweißfäulnis vorkommen, wozu sie, wie gesagt, selbst keine Veranlassung geben, weil sie, bei der Abwesenheit von Nitraten und Kohlehydraten, die Eiweißkörper nur aërob spalten.

Diese Gruppe aërober Fäulnisbewohner enthält mehrere denitrifizierende Formen. Die in kultureller und morphologischer Beziehung am meisten auffallende darunter ist ein typisch rundsporiges Stäbchen oder Clostridium (Tafelfig. 1), durch viele Übergangsformen verbunden mit stäbchen- und clostridienartigen Varietäten, welche längliche oder überhaupt keine Sporen erzeugen. Die Art gehört zu den allgemein verbreiteten Erdbakterien, und die Schwierigkeit ihrer richtigen Erkenntnis (in der Literatur konnte ich keine darauf gänzlich passende Beschreibung finden, die rundsporige als B. fusisporius bezeichnete Form gehört wohl nicht hierher)[1]) liegt in dem außerordentlichen Formenreichtum, wodurch man sozusagen bei jedem Versuche etwas anderes zu finden meint, — da eine nicht, da eine wohl verflüssigende Varietät; ein Stäbchen oder ein Clostridium; stark beweglich oder unbeweglich; eine Form mit länglichen oder eine mit runden Sporen; verflüssigende Kolonien, welche Ausläufer in die Kulturgelatine aussenden oder nicht; welche hell oder trüb, gelb oder ganz ungefärbt erscheinen; welche nur durch homogene Kolonien repräsentiert werden, oder in deren Kolonien Bakterien von sehr verschiedener Größe vorkommen, von Stäbchen von 3 μ Dicke herab bis zu ganz kurzen mikrokokkenartigen Stäbchen von 0,2 bis 0,3 μ Dicke, kurz ein wahres Formenchaos. Alle diese Varietäten zeigen, wie das meistens der Fall ist bei polymorphen Arten, eine große Konstanz, jedoch ist in den älteren Kulturen auch starke Variabilität zu beobachten, so besonders im Vermögen, Sporen zu erzeugen, welches Vermögen leicht verloren geht, was ebenfalls für die Beweglichkeit gilt.

Aus Gartenerde kann man die wenig oder nicht beweglichen Varietäten dieser Art noch auf eine ganz andere Weise anhäufen, wie durch das Fäulnisverfahren, nämlich dadurch, daß man die Erde impft in eine Flüssigkeit von folgender Zusammensetzung: 100 Leitungswasser, 0,5 Natriumacetat oder Calciumacetat, 0,02 Dikaliumphosphat, und bei 40° C kultiviert. Nach ein paar Tagen wird eine Aussaat gemacht auf Bouillongelatine bei 22° C, wobei dann eine Menge langsam wachsender, durchsichtiger, nicht oder sehr schwach verflüssigender, zu mehreren Varietäten gehörender Kolonien entsteht (Bacillus sphaerosporus calco-aceticus), welche in sehr verschiedenem Maße zur Sporenbildung befähigt sind, runde oder längliche Sporen erzeugen, mehr oder weniger beweglich sind, schnell oder langsam wachsen, wenig oder nicht verflüssigen, kurz die gleiche Veränderlichkeit besitzen, wie ihre Verwandten aus der Eiweißfäulnis. Versucht man die Kultur überzuimpfen unter gleichen Bedingungen, wobei sie erhalten wurde, so bekommt man kein oder nur sehr dürftiges Wachstum. Einige, allerdings nur gelegentliche Versuche, um unter diesen Formen Denitrifikatoren zu finden, gaben kein sicheres Resultat.

---

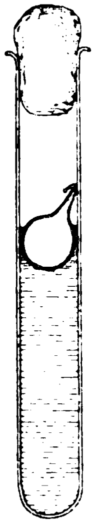
[1]) Möglicherweise hat **Winkler** sie vor sich gehabt, als er die Beschreibung im Bakteriol. Centralbl. Abt. II. Bd. 1. 1895. p. 609 aufstellte, und **Duclaux**, als er seine Gattung **Tyrothrix** aus Käse isolierte.

Fragt man sich, mit welcher beschriebenen Bakterienspezies die verschiedenen hier betrachteten Formen am nächsten verwandt sind, so muß wohl geantwortet werden, mit B. subtilis; doch ist auch diese eine schwierige „Sammelart", welche in einem Bakteriengemisch nur sicher kenntlich ist, wenn durch ein gutes Anhäufungsverfahren (in diesem Falle z. B. der Versuch mit lebenden Kartoffelscheiben bei 37° C) die nötige Einschränkung in der übrigen Bakterienwelt gebracht ist.

Von den nächstverwandten Anaëroben können Tetanus und B. acidi urici[1]) genannt werden, während die Namen B. septicus und B. putrificus coli wohl hierher gehörige Formen bedeuten, jedoch noch allzu unsichere Sammelbegriffe sind, um als Vergleichsobjekte größere Klarheit zu bringen.

Außerordentlich charakteristisch und nach meiner Meinung auf Grund seiner allgemeinen Verbreitung wohl als die Hauptform der angeführten Bakteriengruppe zu betrachten, ist der im Photogramm 1 dargestellte interessante rundsporige Stamm von B. sphaerosporus. Als typischer Bewohner des Stallmistes und leicht aus Erde im allgemeinen, besonders aus trockenem Staub von gedüngten Feldern zu erhalten, ist derselbe doch am sichersten zu finden in den nach oben gegebener Vorschrift angefertigten Präparaten der Eiweißfäulnis. Auf Fleischgelatine erkennt man ihn an den langsam verflüssigenden und doch schließlich sehr groß werdenden gelblichen Kolonien, welche oft am Rande korkzieherförmig in die Gelatine bohrende Ausläufer erzeugen. Die gelbe Farbe rührt von den Bakterienkörpern selbst her. Das mikroskopische Bild ist schön; Stäbchen, gewöhnlich an einem Ende verdickt, mit endständiger Kugelspore im dicken Teile. Echte Clostridien sind seltener. Die Stäbchen sind beweglich und tragen peritriche Cilien. Die Länge ist variabel, 2—5 μ; die Dicke ebenfalls, und wechselt zwischen 0,7—1,5 μ; die Sporen messen 1 μ.

Kohlehydrate werden nur langsam angegriffen und veranlassen die Ablagerung einer reichlichen Glykogenmenge, welche sich mit Jod tief violett braun färbt; organische Salze werden zu Carbonat oxydiert; alles genau so wie bei B. nitroxus, worüber später. Die Hauptnahrung besteht jedoch für beide Arten aus Eiweißkörpern. Ureum wird nicht gespalten. Gärungserscheinungen fehlen entweder ganz, oder werden in schwachem Grade beobachtet in Lösungen von 2 Proz. Glukose und 2 Proz. Pepton bei Luftabschluß bei 37° C. Für diese Kultur ist die Kugelröhre Fig. 2 zu empfehlen, worin der nicht vollständige Luftabschluß durch eine treibende hohle Glaskugel erreicht wird, deren Diameter nur wenig geringer ist wie derjenige der Röhre selbst. Unter den Gärprodukten wurden Kohlensäure und Wasserstoff erkannt, was auch wieder für B. nitroxus gilt.



Figur 2.
Anaërobe Eprouvettenkultur mit treibender, hohler Glaskugel.

---

[1]) Liebert, in Kon. Akademie van Wetenschappen te Amsterdam, 6. Mai 1909. p. 990.

Nur die frisch isolierten Kulturen zeigen in Fleischbouillon bei Luftabschluß mit 0,1 Proz. KNO_3 bei 30° à 37° eine deutliche Denitrifikation. Überimpfungen und lange aufbewahrte Kulturen denitrifizieren nicht mehr. Alles dieses gilt ebenfalls für gewisse Varietäten von B. nitroxus, welcher zu B. sphaerosporus in engster Beziehung steht.

Doch gehen wir nun über zu unserem Hauptthema, nämlich zu den Bakterien aus den Denitrifikationen, welche der Hauptsache nach oder ausschließlich nur durch den soeben genannten Sporenbildner verursacht werden. Als Ausgangspunkt wählen wir eine Anhäufung, wo nur allein Sporenbildner gegenwärtig sein können.

Eine solche wird dadurch erhalten, daß entweder gekochtes oder scharf pasteurisiertes Impfmaterial, oder, wie früher schon hervorgehoben, eine sehr hohe Nitratkonzentration in Bouillon verwendet wird, in welch letzterem Falle frische Erde für die Infektion, und zwar immer in beträchtlicher Menge zu nehmen ist, und wobei die Nichtsporenbildner eben durch das Nitrat in ihrer Entwicklung zurückgehalten werden. Dies ist jedoch nicht spezifisch für die Nitrate, sondern kann auch durch andere Salze in konzentrierter Lösung herbeigeführt werden.

Es muß aber noch einmal hervorgehoben werden, daß die denitrifizierenden Sporenbildner so allgemein in Gartenerde verbreitet sind, daß sie in Nitratbouillon mit Nitratgehalten zwischen 1 Proz. bis 12 Proz. bei 20° bis 37° C, wenn viel Gartenerde als Impfmaterial verwendet wird, in der Rohkultur in der Weise alle anderen Bakterien verdrängen, daß man mikroskopisch kaum von den letzteren etwas bemerkt, und nur Stäbchen mit und ohne Sporen von Denitrifikatoren erblickt. Zwar zeigt das Plattenverfahren dabei oft das umgekehrte Verhalten, doch liegt das daran, daß auf den gewöhnlichen Kulturplatten die denitrifizierenden Sporenbildner schwierig, die anderen Arten leichter wachsen. Daß mithin geschlossen werden muß auf die große Allgemeinheit der Sporenbildner in den Bodenproben, folgt übrigens auch erstens daraus, daß man auf Erbsenlaub-Dekokt-Agar bei 30° C aus der genannten Rohkultur tatsächlich die Kolonien der Sporenbildner bei weitem allgemeiner findet wie diejenigen der übrigen Arten, so daß tatsächlich die in den gewöhnlichen Bouillonplatten gegebenen Ernährungsbedingungen verbessert werden, wenn dafür die genannte Pflanzensubstanz angewendet wird. Zweitens muß jener Schluß gezogen werden aus dem Umstande, daß die Überimpfungen der bezeichneten gärenden Kulturflüssigkeiten, wenigstens bei niedrigen Nitratgehalten, selbst bei 37° C, sich mehr und mehr anreichern mit den nicht sporenerzeugenden Arten, worunter B. pyocyaneus wieder eine Hauptrolle spielt. Hieraus ergibt sich nämlich offenbar, daß die Lebensbedingungen auch in den Rohkulturen für diese Arten ganz gute gewesen sein müssen und nur ihre geringe Anzahl ihren, im Boden viel allgemeiner verbreiteten Sporenbildner-Konkurrenten Überlegenheit verlieh. Und dieses sieht man auch wieder aus dem Gehalte der Gärungsgase an N_2O, welcher Gehalt in den Rohkulturen, in Bouillon mit 1 Proz. KNO_3 oder 2 Proz. NH_4NO_3 von 76 Proz. bis 84 Proz. betragen kann, und schon bei der ersten Überimpfung auf 20 Proz. bis 25 Proz. zurücksinkt, ganz in Übereinstimmung mit der Verschiedenheit der Stickoxydulbildung zwischen Sporen- und Nichtsporenbildnern.

Findet dagegen diese Überimpfung statt aus einer Rohkultur mit 8 Proz. à 12 Proz. Nitrat in eine solche, welche ebenfalls 8 Proz. à 12 Proz. Nitrat enthält, wodurch die vorwiegende Entwicklung der Sporenbildner bleibend gesichert

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

ist, so sieht man schon nach 24 Stunden die Gasentwicklung beginnen; am zweiten Tage wird eine heftige Schaumgärung beobachtet und das Gas enthält 80 Proz. oder mehr Stickoxydul, so daß ein glühender Span plötzlich darin entflammt, und die nicht sporenerregenden Denitrifikatoren offenbar in ihrer Entwicklung zurückgehalten werden.

Auch das mikroskopische Bild zeigt der Hauptsache nach in diesem Falle nur Sporenbildner allein.

Wir müssen hier jedoch noch hinzufügen, daß hohe Nitratgehalte in den Nährflüssigkeiten nahezu allen Denitrifikatoren für die Stickoxydulbildung günstiger sind, wie geringe, wovon bei den Reinkulturen Beispiele gegeben werden, so daß auch die Nichtsporenbildner unter diesen Bedingungen mehr Oxydul erzeugen würden, wenn sie nicht von den Sporenbildnern verdrängt wären.

Es gelang uns leicht durch das Plattenverfahren, aus den Rohkulturen drei, bezüglich Wachstum und Form abweichende, sporenbildende Denitrifikatoren zu isolieren. Dafür wird am besten Erbsenlaubdekoktagar verwendet[1]), worauf diese Formen besonders kräftig fortkommen. Zwei davon sind Stäbchenbakterien, die dritte ist bei normaler Ausbildung ein kurzes Clostridium. Trotz der morphologischen Verschiedenheit muß es sich wohl um eine einzige Spezies handeln, nicht nur weil die Lebensbedingungen der drei Formen identisch sind, sondern auch weil die physiologischen Eigenschaften bezüglich Ernährung und Denitrifikation übereinstimmen. Diese Art ist dann die mit dem Namen **Bacillus nitroxus** bezeichnete. Weil die Clostridiumform auf den Platten bei weitem die allgemeinste ist, soll diese hier mehr im besonderen betrachtet werden.

Die Kolonien auf Erbsenlaubagarplatten sind bei 30° dicke, flach ausgebreitete, gelbliche, weiche, glänzend-feuchte Massen mit scharfem Rande, von 4 bis 10 mm Mittellinie, anfangs aus clostridienartigen Stäbchen zusammengesetzt (Tafelfig. 3 und 4). Auf Fleischbouillongelatine, bei Zimmertemperatur, bleiben dieselben ziemlich klein, doch wachsen sie auf diesem Substrate auffallend lange fort, verflüssigen etwas und senden nicht selten Ausläufer in das Nährsubstrat, gerade wie B. sphaerosporus. Obschon der Hauptsache nach im erwachsenen Zustande aus kurzen Clostridien (Tafelfig. 5 und 6) bestehend, finden sich in den meisten Kolonien auch neben diesen viele gewöhnliche Stäbchen von verschiedener Länge und Dicke und ohne Sporen, wovon die kleinsten so sehr von der Hauptform abweichen, daß man anfangs kaum glauben kann, daß es sich dabei nicht um eine Infektion handelt. Überdies fehlen die kleinen Stäbchen in einzelnen Kolonien gänzlich, welche dann allein aus Clostridien bestehen, was noch mehr den Gedanken an eine Infektion erweckt.

Auf Bouillonagar, worauf die Kolonien ziemlich klein, z. B. 1—3 mm in Mittellinie, bleiben und zwischen den Symbionten schwierig aufzufinden sind, wurden diese feinen Stäbchen überhaupt nicht gefunden. Auf diesem Kulturboden sind aber die Glieder, welche bei der Teilung in den jungen Kolonien entstehen, in anderer Beziehung nicht weniger polymorph, so daß man in derselben Kolonie Fäden, Stäbchen von verschiedenster Länge, Kugeln, Zellen, welche durchaus an Apiculatushefe erinnern, birnenförmige und sonderbar gekrümmte und gewundene Konglomerate in bunter Vereinigung nebeneinander findet (Tafelfig. 2.)

---

[1]) Dargestellt durch 20 g junges, kräftig wachsendes Erbsenlaub, einige Stunden lang mit 100 g destilliertem Wasser zu kochen und zu digerieren.

Auf Erbsenlaubagar erzeugen die Clostridien sehr leicht Sporen. Diese sind dann bohnenförmig und messen 1 bis 2 μ. Sie geben den Clostridien ein ungemein eigentümliches Aussehen, wodurch Ähnlichkeit mit Granulobacter sphaericum entsteht. Jedoch zeigt das in den Clostridien reichlich abgesetzte, sich mit Jod braun färbende Glycogen, daß es sich hier um einen anderen Reservestoff handelt, wie die bei Granulobacter abgelagerte Granulose.

Bei weniger günstiger Ernährung, z. B. in Glukose-Peptonlösung, oder in Bouillon mit oder ohne Nitrat, erzeugt B. nitroxus schwieriger Clostridien, welche wieder höchst veränderlich der Form nach sind. Aber auch die darin vorherrschende Stäbchenform zeigt neben vielen normalen eine Reihe abweichender Gestalten. Entstehen darin Sporen, so sind diese sehr oft vollständig kugelig und viel kleiner, wie die bohnenförmigen. Man sieht, daß man hier wieder vor einem Falle ähnlicher Vielgestaltigkeit steht, wie bei dem aus der Eiweißfäulnis isolierten Denitrifikator. Bei dem letzteren äußert die Vielgestaltigkeit sich aber durch den Vergleich verschiedener, jedoch unzweifelbar verwandter Formen unter identischen Ernährungsbedingungen bei B. nitroxus dagegen durch den Vergleich der Formen von ein und derselben Varietät bei verschiedener Ernährung.

B. nitroxus zeigt aber auch sehr leicht eine Variabilitätserscheinung mit erblich konstantem Erfolge. Betrachtet man nämlich die Kolonien, welche ein paar Wochen auf Erbsenlaubagar gewachsen sind, genau, so wird man finden, daß in einzelnen davon eine Sektorvariation stattgefunden hat, welche darin besteht, daß ein sektorförmiger Teil der Kolonie keine Sporen erzeugt hat. Wird davon eine weitere Aussaat gemacht, so ergeben die daraus hervorgehenden Kolonien sich als asporogen, und das Vermögen der Sporenbildung erscheint vollständig verloren, auch bei weiteren Überimpfungen unter günstigen Ernährungsbedingungen.

Die Denitrifikation in Fleischbouillon mit 0,1 à 1 Proz. Kaliumnitrat findet weit besser statt bei Luftabschluß, z. B. bei der Kultur in der Kugelröhre (Fig. 2), wie bei Luftzutritt, und bei lange fortgesetzter Kultur an der Luft können die Überimpfungen dieses Vermögen ebenso vollständig verlieren wie B. sphaerosporus. Dieses erweckt den Gedanken, daß in den Rohdenitrifikationen auch gänzlich anaërobe Stämme von B. nitroxus vorkommen, eine Frage, worüber wohl bald mehr Licht aufgehen wird, da es feststeht, daß, wie schon gesagt, auch zu B. sphaerosporus anaërobe Nebenformen gehören, welche unter den Bedingungen der Eiweißfäulnis leben; doch sind unsere Untersuchungen darüber noch nicht abgeschlossen. Merkwürdigerweise konnte in Erbsenlaubextrakt mit Nitraten wohl Wachstum, jedoch keine deutliche Gasbildung beobachtet werden, eine ebenfalls noch nicht genügend durchstudierte Eigenschaft.

Zufügung von Asparagin, 2 % Glukose oder Glycerin zu Nitratbouillon ist dem Denitrifikationsvorgang nicht ungünstig, und auch verdünnte Malzwürze mit Nitrat ist leicht zu denitrifizieren. Ohne peptonartige Stickstoffquelle findet in den Reinkulturen von Nitroxus keine Denitrifikation statt, wohl jedoch in den Rohkulturen, so besonders kräftig in Seignettesalz-Asparagin-Nitratlösung bei 37 ° C.

Gewöhnliche Gärungserscheinungen in bezug auf die Kohlehydrate können am besten in der Kugelröhre Fig. 2, also wieder bei partiellem Luftabschluß, beobachtet werden. Dieselben sind bei B. nitroxus schwach und nicht bei jeder Kolonie ist die Eigenschaft gleich stark ausgebildet. Auch hier war wieder eine Lösung von 2 bis 5 Proz. Glukose mit 2 Proz. Pepton das Medium, worin die Gärung am deutlichsten stattfand.

Daß Manches von dem in diesem § berührten Gegenstande an Unbestimmtheit leidet, mag dadurch entschuldigt werden, daß es sich hier um die Bakterien der Eiweißfäulnis und ihre Verwandten handelt, wovon die Beschreibung um so schwieriger wird, je besser man mit deren Formenreichtum bekannt ist.

6. Erzeugung von Stickoxydul in den Reinkulturen der Nichtsporenbildner.

Die Überzeugung, daß alle Denitrifikatoren unter gewissen Umständen, besonders bei hoher Nitratkonzentration und hoher Temperatur, Stickoxydul hervorbringen, hat sich durch die Untersuchung der Reinkulturen dreier gänzlich verschiedener Arten, nämlich Bacillus pyocyaneus, B. Stutzeri und Micrococcus denitrificans gut bestätigt. Von einigen solcher Versuche folgt hier eine Beschreibung:

a) Stickoxydulbildung durch B. pyocyaneus.

Am 29. Juni wurden 150 ccm Fleischbouillon mit 1 Proz. Ammonnitrat, welches sich im Kulturapparat (Fig. 1) bei Luftabschluß befand, infiziert mit einem aus Gartenerde isolierten Stamm von B. pyocyaneus und bei 37° C kultiviert. Die Analyse des über Quecksilber gesammelten Gases gab folgendes Resultat:

Beginn	Datum	Gas in ccm	Stickoxydul in ccm	in %	Kohlensäure in ccm	in %	Stickstoff in ccm	in %
29. Juni	1. Juli	43	28	65	3	7	12	28
	6. „	60	43,2	72	6	10	10,8	18
	10. „	90	50,4	56	9	10	30,6	34
	15. „	48	20	44,7	6	12,5	22	54
Total		241	141,6	58,3	24	9,9	75,4	31,8

Bei mikroskopischer und kultureller Plattenuntersuchung stellte sich heraus, daß das Präparat sicher rein geblieben war.

Wie man sieht, war besonders im Anfang viel Stickoxydul im Gase gegenwärtig, so daß am 6. Juli ein glühender Span darin aufflammen konnte. Daß sich die relative Oxydulmenge später verminderte, kann damit zusammenhängen, daß nur 1 Proz. Nitrat verwendet war, welcher Gehalt natürlich schnell zu einer sehr geringen Menge sinken mußte, was ausnahmslos auch in anderen Fällen und in den verschiedensten Rohkulturen mit starker Verminderung des Oxydulgehaltes einhergeht. Am 15. Juli war Nitrat oder Nitrit durch die Diphenylaminschwefelsäurereaktion noch nachweisbar.

b) Stickoxydulbildung durch B. Stutzeri.

Wir haben mit zwei Varietäten dieser Bakterie experimentiert, wovon die eine (Var. No. 1) stammte aus einem Denitrifikationsversuch mit Seignettesalz infiziert mit Gartenerde die zweite (Var. No. 2) aus Fleischbouillon mit 1 Proz. Ammonnitrat, ebenfalls mit Gartenerde in Denitrifikation versetzt. Beide Varietäten bilden deutlich verschiedene Kolonien.

1. Versuch. Am 8. Juli wurde Bouillon mit 1 Proz. Ammonnitrat in geschlossener Flasche infiziert mit Stutzeri (Var. No. 1) und kultiviert bei 37°.

Das Gas wurde oberhalb gesättigter Chlorcalciumlösung gesammelt, wovon wir wissen, daß es die Gärungsgase so gut wie gar nicht löst. Die Analyse lehrte folgendes:

Beginn	Datum	Gasvolum in ccm	Stickoxydul		Kohlensäure		Stickstoff		
			in ccm	in %	in ccm	in %	in ccm	in %	
8. Juli	9. Juli	32	3	9,4	4	12,5	25	78,1	**Am 15. Juli wurde der Versuch beendet, die Gasbildung dauerte jedoch fort.**
	12. „	43	4	9,3	6	14	33	76,7	
	15. „	23	2	9	8	13	18	78	

Mikroskopisch und kulturell konnte nachgewiesen werden, daß die eingeimpfte Bakterie vorherrschte, doch war eine nicht denitrifizierende Infektion eingeschlichen. Der langsame Verlauf des Versuches muß wahrscheinlich auf zu hoher Temperatur und ungenügender Lüftung beruht haben.

2. Versuch. Bouillon mit 1 Proz. Ammonnitrat wurde am 8. Juli mit B. Stutzeri No. 2 infiziert. Bei 31° C waren erst am 17. Juli 36 ccm Gas entwickelt, wovon 4 ccm oder 4 Proz. Stickoxydul und 32 ccm oder 89 Proz. Stickstoff, während die Kohlensäure noch gänzlich gelöst war. Das Gas war über Quecksilber aufgefangen.

3. Versuch. Wie vorgehend, jedoch mit 2 Proz. Ammonnitrat.

Die Gasanalyse ergab:

Beginn	Datum	Gesamtgas in ccm	Stickoxydul		Kohlensäure		Stickstoff	
			in ccm	in %	in ccm	in %	in ccm	in %
8. Juli	9. Juli	22	4,5	20,5	2	9	15,5	70,5
		41	6	14,6	6	14,6	29	70,8
		37	3	8,1	4	10,8	30	81,1

Das Gas war oberhalb gesättigter Chlorcalciumlösung gesammelt, und die Untersuchung zeigte, daß die Kultur rein geblieben war.

4. Versuch, wie vorstehend, aber mit 5 Proz. Ammonnitrat.

Beginn	Datum	Gesamtgas in ccm	Stickoxydul		Kohlensäure		Stickstoff	
			in ccm	in %	in ccm	in %	in ccm	in %
10. Juli	12. Juli	31	3	9,7	4	13	24	77
	15. Juli	24	5	21	12	50	2	29

Am 12. Juli war $MgHPO_4$ zugesetzt, um das Ammoncarbonat zu entfernen, wodurch viel Kohlensäure freigestellt war.

Alle diese Versuche zeigen, daß die Kulturbedingungen nicht günstig waren, wie das aber mit Reinkulturen von denitrifizierenden Bakterien in Fleischbouillon so oft eintritt, ohne daß die Gründe dafür immer klar werden. Bekanntlich kann B. Stutzeri sich in Lösungen von organischen Salzen bei Temperaturen zwischen 30 und 33° C viel kräftiger entwickeln, doch war es uns zunächst allein darum zu tun, zu zeigen, daß auch diese Bakterie Stickoxydul erzeugt bei der gewöhnlichen, für Denitrifikation gewählten Versuchsanstellung.

c) Stickoxydulbildung durch Micrococcus denitrificans.

Daß auch der neue, von uns bei Versuchen mit Seignettesalz aufgefundene denitrifizierende Micrococcus in Reinkultur Stickoxydul erzeugen kann, geht aus folgender Beobachtung hervor:

Am 1. Juli wurde Fleischbouillon mit 1 Proz. Ammonnitrat in dem Quecksilberapparat mit Reinkultur des Micrococcus infiziert und bei 37° kultiviert. Das Wachstum war langsam, und die Gasanalyse lehrte folgendes:

Beginn	Datum	Gasvolum in ccm	Stickoxydul		Kohlensäure		Stickstoff	
			in ccm	in %	in ccm	in %	in ccm	in %
1. Juli	10. Juli	50	10	20	19	38	21	42
	15. „	22	5	23	5	23	12	54

Ein fünfter Teil des Gases war also Stickoxydul.

Der Versuch wurde nicht weiter verfolgt, weil es uns auch hier nur um das qualitative Resultat zu tun war.

Aus unseren eigenen Versuchen mit Bouillon-Nitrat, Asparagin-Nitrat und Seignettesalz-Nitrat in Verbindung mit denjenigen von Gayon und Dupetit mit ihrer Asparagin-Ammoncitrat-Nitratnährlösung muß also geschlossen werden, daß unter allen bisher untersuchten Umständen bei der Denitrifikation neben freiem Stickstoff Stickoxydul entsteht. Im allgemeinen wird die Bildung des Stickoxyduls stark gefördert durch hohe Nitratkonzentration, und auch relativ hohe Temperaturen scheinen diesen Vorgang stets zu begünstigen. Diese beiden Umstände sind eben für die Entwicklung des denitrifizierenden Sporenbildners (Bacillus nitroxus) sehr günstig und gleichfalls, wenn auch in geringerem Maße, für B. pyocyaneus, welcher ebenfalls zu den kräftigsten Stickoxydulbildnern gehört. Sind die genannten Bedingungen nicht realisiert, so erzeugen auch diese Bakterien mehr freien Stickstoff. Bacillus Stutzeri tut letzteres unter allen Umständen.

Im Anfang unserer Untersuchung hatten wir den Eindruck, daß eine langsame Gasbildung bei übrigens günstigen Entwicklungsbedingungen stets auf die Entstehung von relativ viel Oxydul hinweist, doch haben wir später für diese Regel mehrere Ausnahmen gefunden.

Es steht fest, daß die Oxydulbildung auch in der Natur regelmäßig stattfinden muß; eine der Ursachen, wodurch die direkte Beobachtung davon erschwert wird, werden wir im folgenden Kapitel betrachten.

Kapitel 2.

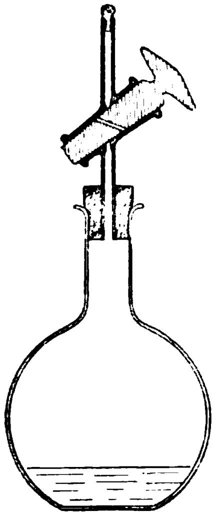
Verbrauch von Stickoxydul durch Bakterien.

1. Verbrauch in Rohkulturen.

Die großen Unregelmäßigkeiten, welche vom Anfang unserer Versuche an bei der Stickoxydulbildung beobachtet wurden, veranlaßten, die Frage zu stellen, ob dieses Gas vielleicht von den Erzeugern selbst würde verbraucht werden können. Auf sehr einfache Weise konnten wir nachweisen, daß dieses tatsächlich der Fall ist, und zwar nicht allein durch rohe Bakterienanhäufungen, sondern auch durch bestimmte Arten in Reinkultur. Der von uns schließlich für diese Versuche verwendete Apparat besteht aus einem Koch-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

kolben von 200 ccm Inhalt, worin 50 ccm mit der Kulturflüssigkeit und 150 ccm mit stickoxydulhaltigem Gasgemisch angefüllt wurden. Der Kolben ist geschlossen mit Gummistöpsel und Glashahn (Fig. 3), welch letzterer Füllung und Probeentnahme des Gases durch die Gasbürette gestattet. Die Füllung geschieht derweise, daß durch Kochen der Nährflüssigkeit und Abkühlung bei geschlossenem Hahn ein Vacuum erzeugt wird, welches nach Verbindung mit dem mit Stickoxydul angefüllten Gasometer sich mit diesem Gase vollsaugt. Die Infektion findet statt, indem in den Raum in der kleinen Glasröhre oberhalb des Hahnes steriles Wasser mit dem zu verwendenden Impfmaterial gebracht und der Hahn etwas geöffnet wird zur Schaffung nach innen.



Figur 3.
Kolben mit Glashahn für Mikrobenkultur in Stickoxydulatmosphäre bei constantem Volum.

Wir verwendeten zuerst Stickoxydul, aus Ammonnitrat bereitet, von der Zusammensetzung:

N_2O	84,6 Proz.
N_2	9,4 Proz.
O_2	6,0 Proz.

Später beinahe reines N_2O, bereitet aus salzsaurem Hydroxylamin und Kaliumnitrit:

$$NH_2OH \cdot HCl + KNO_2 = N_2O + KCl + 2\ H_2O.$$

Das Gas wurde im Gasometer über gesättigter Chlorcalciumlösung aufbewahrt.

Das qualitative Kriterium für die Zerlegung des Stickoxyduls ist die Druckzunahme im Innern des Kolbens. Wird nämlich das Gas assimiliert, so entsteht eine Kohlensäuremenge, welche dem Sauerstoff und eine Stickstoffmenge, welche dem Stickstoff des Oxyduls entspricht:

$$2\ N_2O + C \ldots = 2\ N_2 + CO_2,$$

so daß eine Volumzunahme von vier auf sechs, also auf $1^1/_2$ zustande kommt. Bei den Rohkulturen ist der Stickoxydulverbrauch so beträchtlich und findet so schnell statt, daß die einfachste Versuchsanstellung schon überzeugend ist. Mit den meisten Reinkulturen müssen genauere Beobachtungen angestellt werden; nur B. Stutzeri zerlegt sehr kräftig.

Schon unsere ersten Versuche mit großen Kolben von 500 ccm und einem flüssigen Inhalt von 100 ccm gaben sofort positive und sehr überraschende Resultate.

Hier folgt die nähere Beschreibung einiger unserer Versuche:

Am 25. Mai wurde ein Erlenmeyerkolben von 500 ccm mit 100 ccm Fleischbouillon gefüllt, mit etwas Gartenerde infiziert und darein gebracht ca. 400 ccm eines Gases, welches 84,6 Proz. N_2O, 9,4 N_2 und 6 Proz. O_2 enthielt, und kultiviert bei 37° C.

Als am 27. Mai deutlich Überdruck bemerkbar war, wurde die erste Gasanalyse ausgeführt, wobei sich zeigte, daß der Stickoxydulgehalt auf 70 Proz. gesunken war.

Am 1. Juni wurden drei neue Gasanalysen ausgeführt mit 35, 30 und 26 ccm Gas, alles mit dem gleichen Resultate, daß das Gas zusammengesetzt war aus:

5 Proz. N_2O, 2 Proz. CO_2, 90 Proz. N_2 und kein Sauerstoff.

Beinahe alles Stickoxydul war also verschwunden.

Mikroskopisch waren nur sehr kleine Bakterien nachweisbar. Kulturell wurde neben vielen kleinen nicht denitrifizierenden auch B. pyocyaneus gefunden und eine verflüssigende fluoreszierende Form.

Interessanter sind die Versuche, wenn anstatt Bouillon einfachere Kulturflüssigkeiten verwendet werden.

Am 25. Mai wurden 500 ccm einer Kulturflüssigkeit von der Zusammensetzung: 100 Leitungswasser, 0,5 Asparagin, 0,05 K_2HPO_4 mit Erde infiziert, in einem Erlenmeyerkolben von 500 ccm eingebracht und der weitere Raum angefüllt mit dem oben genannten Gase, welches 84,6 Proz. N_2O enthielt, und bei 37° kultiviert. Schon am 26. Mai war Druck bemerkbar und es wurden nur noch 3 Proz. N_2O bei der Gasanalyse gefunden.

Am 27. Mai wurde aus dieser Kultur ein Tropfen übergeimpft in eine identische Kulturflüssigkeit und bei 37° kultiviert. Am 1. Juni zeigte die Gasanalyse in 40 ccm kein N_2O mehr, dagegen 17 Proz. CO_2, 83 Proz. N_2 und keinen Sauerstoff. Es wurde daraus am 29. Mai aufs neue unter identischen Bedingungen übergeimpft und kultiviert. Das Gas am 1. Juni, also einer jungen Kultur, hatte die Zusammensetzung: Kein N_2O, 13 Proz. CO_2 und 87 Proz. N_2. Die Kulturflüssigkeit war strotzend mit kleinen Bakterien erfüllt, welche bei der Kultur meistenteils als B. Stutzeri, ferner als B. pyocyaneus und vereinzelte andere Arten erkannt wurden.

Hierdurch war also erwiesen, daß der Hauptsache nach denitrifizierende Bakterien das Stickoxydul gespalten hatten, und daß sie den Sauerstoff desselben ebenso gut für die Verbrennung des Asparagins hatten verwenden können, wie denjenigen des Nitrats.

Weil der Stickstoff natürlich in der Flüssigkeit aus dem gelösten Stickoxydul frei gemacht wird, kann man in solchen Kulturen beim Schütteln des Kolbens, trotz des darin herrschenden Druckes, Gasentwicklung sehen.

Weil uns dieser Versuch wichtig erschien, haben wir denselben in unserem kleinen Kulturapparat (Fig. 3) von 200 ccm mit 50 ccm der gleichen Nährlösung und 150 ccm Gas von der Zusammensetzung 77,6 Proz. N_2O, 8 Proz. Sauerstoff und 14,4 Proz. N_2 bei 37°, aber ohne jede Infektion, wiederholt. Der Versuch begann am 29. Mai, am 5. Juni hatte das Gas genau die gleiche Zusammenstellung behalten und Bakterienwachstum war nicht eingetreten.

Wir haben noch drei weitere Versuche ausgeführt mit einer Kulturflüssigkeit von folgender Zusammenstellung: Leitungswasser, 1 Proz. Calciummalat, 0,05 Proz. Chlorammon, 0,05 Proz. K_2HPO_4, infiziert mit Erde, kultiviert bei 37° im Apparat Fig. 3.

In einem am 25. Mai begonnenen Versuche war am 27. Mai alles N_2O verschwunden. In einem anderen am 27. Mai begonnenen Versuche war eine identische Nährlösung, jedoch als Impfmaterial ein Tropfen der vorgehenden Kultur verwendet, und hieraus wurde am 29. wieder ein Tropfen unter identischen Bedingungen übergeimpft.

Das Gas im letzteren Versuche ergab bei der Analyse 3 Proz. N_2O, 33 Proz. CO_2, 64 Proz. N_2, kein Sauerstoff. Auch hier war also das Stickoxydul beinahe verbraucht. Die bakteriologische Untersuchung bei Aussaat auf Bouillonagar und Bouillongelatine lieferte viel B. pyocyaneus und stark wachsende Kolonien einer nicht verflüssigenden Art in sehr großer Menge.

Wenn man bei der Beurteilung dieser Resultate bedenkt, daß Asparagin ohne Sauerstoffquelle eine sehr schlechte Bakteriennahrung darstellt, so ist

Digitized by Google · Original from UNIVERSITY OF IOWA

durch das vorhergehende erwiesen, daß Stickoxydul eine ebenso gute Quelle für Oxydationssauerstoff wie die Nitrate ist.

2. Verbrauch von Stickoxydul durch Reinkulturen.

Weil wir durch die vorgehenden Versuche sichergestellt hatten, daß gewisse Denitrifikatoren, wie B. Stutzeri und B. pyocyaneus, sich durch Stickoxydul in Asparagin- und Malatlösungen ebensogut anhäufen lassen, wie durch Nitrate, lag es auf der Hand zu erwarten, daß eben diese Arten auch in den Reinkulturen das Oxydul zerlegen würden.

Um dieses definitiv zu erweisen, folgen hier die Resultate zweier Versuche mit zwei Varietäten von B. Stutzeri und von einem mit B. pyocyaneus: In allen Fällen war die Kulturflüssigkeit wieder Leitungswasser, 0,5 Proz. Asparagin, 0,05 Proz. K_2HPO_4, wovon 50 ccm in unseren kleinen Kulturapparat (Fig. 3) gebracht wurde mit 150 ccm Stickoxydul aus Ammonnitrat bereitet von der Zusammensetzung: 77,6 Proz. N_2O, 8 Proz. O_2 und 14,4 Proz. N_2. Es wurde bei 37° kultiviert und ebenfalls am 29. Mai infiziert.

Beim ersten Versuche wurde geimpft mit einem alten Stamme von B. Stutzeri aus der Sammlung. Am 5. Juni bestanden 36 ccm des Gases aus 1,6 ccm oder 4,4 Proz. N_2O, 7 ccm oder 19,4 Proz. CO_2 und 27,4 oder 76,2 Proz. N_2, Sauerstoff fehlte. Es war also das gesamte Stickoxydul zerlegt und in freien Stickstoff verwandelt.

Bei einem anderen Versuche wurde geimpft mit einem neuen Stamm von B. Stutzeri, aus einer Asparagin-N_2O-Anhäufung isoliert. Am 5. Juni bestanden 42 ccm des Gases im Kölbchen aus 1 ccm oder 2,4 Proz. N_2O, 8 ccm oder 19 Proz. CO_2 und 33 ccm oder 78,6 Proz. N_2, Sauerstoff fehlte. Auch hier war also das N_2O verbraucht. Beide Kulturen waren mikroskopisch und kulturell rein geblieben.

Beim dritten Versuche fand die Infektion statt mit B. pyocyaneus. Der N_2O-Verbrauch war in diesem Falle viel langsamer, wie mit B. Stutzeri, doch färbte sich die Kulturflüssigkeit nach mehreren Tagen blau durch Pyocyaninbildung. Am 5. Juni bestanden 47 ccm des Gases im Kölbchen aus 34 ccm oder 72$^1/_2$ Proz. N_2O, 1,4 ccm oder 3 Proz. CO_2, 7,8 ccm oder 17 Proz. N_2 und 3,8 ccm oder 8 Proz. O_2, so daß merkwürdigerweise noch kein Sauerstoffverbrauch nachzuweisen war. Am 24. Juni bestanden 20 ccm des Gases aus 14 ccm oder 70 Proz. N_2O, 0,6 ccm oder 3 Proz. CO_2, 4,4 ccm oder 22 Proz. N_2 und 1 ccm oder 5 Proz. Sauerstoff, so daß letzteres Gas bis zum Ende des Versuchs nachweisbar blieb. Die Denitrifikation des Stickoxyduls durch B. pyocyaneus ist durch diesen Versuch jedoch erwiesen.

Wir haben die Versuche mit Reinkulturen wiederholt mit viel reinerem N_2O, welches aus salzsäurem Hydroxylamin und Kaliumnitrit bereitet war und aus 96 Proz. N_2O und 4 Proz. N_2 bestand.

Wir arbeiteten mit dem Kolben (Fig. 3) und mit der Kulturflüssigkeit: 50 ccm Leitungswasser, 1 Proz. Calciummalat, 0,02 Proz. $ClNH_4$, 0,02 Proz. K_2HPO_4 und 150 ccm N_2O, immer bei 37°; alle Versuche begannen am 10. Juli.

Aus einem Kontrollversuch ohne Infektion ergab sich, daß die Zusammensetzung des Gases nach 9tägiger Brütung kaum verändert war: 20 ccm aus dem Apparat gesogen, ergaben 19 ccm oder 95 Proz. N_2O und 1 ccm oder 5 Proz. N_2.

In einem Versuche mit B. Stutzeri (isoliert aus Fleischbouillon-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Ammonnitrat) stieg der Druck im Apparat in 9 Tagen derart, daß wir am 19. Juli 94 ccm durch Überdruck austreten lassen konnten. Hiervon hatten 50 ccm die Zusammenstellung:

N_2O	3	ccm oder	6	Proz.
N_2	34	„ „	68	„
CO_2	13	„ „	26	„

so daß nahezu 90 Proz. des Oxyduls in Stickstoff und Kohlensäure (zum Teil als Carbonat) verwandelt waren.

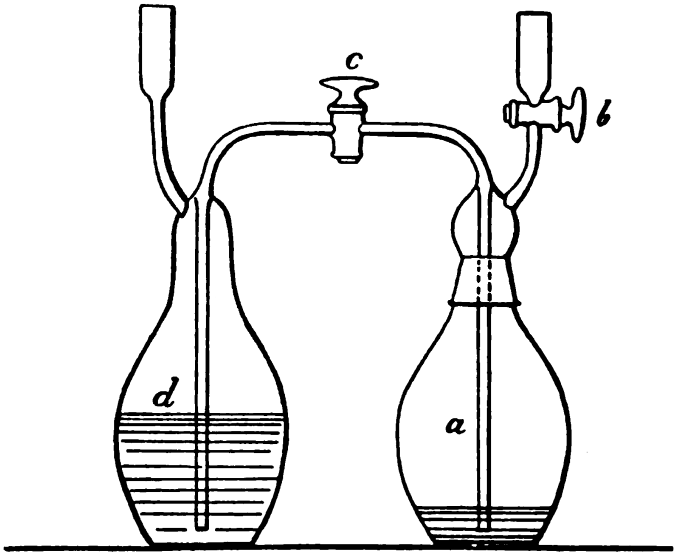
Mit B. pyocyaneus war das Resultat, daß 45 ccm durch Überdruck ausgeblasen werden konnten, wovon 25 ccm analysiert wurden und ergaben:

N_2O	17	ccm oder	68	Proz.
N_2	5	„ „	20	„
CO_2	3	„ „	12	„

so daß hier, wie bei dem früheren Versuch mit B. pyocyaneus, die Zerlegung zwar schwächer, jedoch ebenfalls unzweifelhaft war.

3. Kann Stickoxydul zugleich als Sauerstoff- und Stickstoffquelle verwendet werden?

Bei den vorhergehenden Versuchen war stets neben dem Stickoxydul noch eine besondere Stickstoffquelle zur Verfügung, sei es als Chlorammon, als die Amidgruppe des Asparagins, oder als die stickstoffhaltigen Körper der Fleischbouillon. Um nun die hier gestellte Frage zu beantworten, haben wir den Apparat von Dr. Söhngen verwendet (Fig. 4)[1]. Der Kolben a wurde beschickt mit Leitungswasser, 1 Proz. Calciummalat, 0,05 Proz. K_2HPO_4 und weiter angefüllt mit dem mit etwas Luft verunreinigten Stickoxydul, wovon oben die Zusammensetzung gegeben ist. Der Kolben b erhielt das gleiche stickstofffreie Gemisch und stand mit der atmosphärischen Luft in Verbindung. Es wurde am 25. Mai infiziert mit Erde und bei 30° C kultiviert, weil wir eine Temperatur von 37° zu vermeiden wünschten, um im Kolben b Bindung des atmosphärischen Stickstoffs durch Azoto-



Figur 4. Apparat von Dr. Söhngen für Mikrobenkultur in Gasatmosphäre bei konstantem Druck (c offen), oder bei konstantem Volum (c zu). Für Füllung mit oder Entnahme von Gas werden Gummischläuche mit Glasröhre in die erweiterten Teile der Tubulaturen geschoben: a Kulturkolben mit Gasatmosphäre; b, c Hähne; d Kolben mit Nährlösung und Luft.

---

[1] Centralbl. f. Bakteriol. 2. Abt. Bd. 15. S. 513, 1905.

bacter zu ermöglichen, wofür 37° zu hoch ist. Schon am 29. Mai war es klar, daß die Absorption des Oxyduls begonnen hatte, denn beim Öffnen des Hahnes c zeigte sich Überdruck. Am 4. Juni ergab die Gasanalyse folgendes: 4 Proz. N_2O, 25 Proz. CO_2 und 71 Proz. N_2 ohne Sauerstoff, so daß beinahe alles Stickoxydul verbraucht war. In diesem Kolben hatte sich eine dichte Spirillenkultur einer kleinen, Spirillum tenue ähnlichen Art entwickelt, welche nicht nur in der Tiefe, sondern auch als treibende Haut vorkam, vermischt mit vielen Sphaeriten von Calciumcarbonat. Dieses Resultat war besonders dadurch auffallend, daß im Kolben b, also in Berührung mit der Luft, in Übereinstimmung mit der Erwartung, eine Azotobacterhaut entstanden war, während im Kolben a diese Art vollständig fehlte. Das Stickoxydul hatte sich deshalb bezüglich Azotobacter wie eine Lösung eines Ammonsalzes oder eines Nitrates betragen und dessen Wachstum verhindert. Merkwürdig war es auch, daß eben in diesem Falle ein Spirillum erhalten war, welches als Denitrifikator den Stickstoffs aus dem Oxydul frei gemacht hatte, während uns bei keinem andern Denitrifikationsversuch Spirillen begegnet sind.

Obschon wir hinzufügen müssen, daß eine Überimpfung der Spirillenkultur unter gleichen Bedingungen kein Spirillenwachstum ergeben hat, steht es fest, daß die an der Spitze dieses Paragraphen gestellte Frage zu bejahen ist für die bezeichnete Rohkultur.

Daß auch B. Stutzeri in Reinkultur, wenn auch schwierig, N_2O als Stickstoffquelle verbrauchen kann, ergibt sich aus folgendem Versuche:

Als Kulturflüssigkeit kam wieder Leitungswasser, 1 Proz. Calciummalat, 0,02 Proz. Kaliumphosphat, mit Weglassung des Ammonsalzes in Verwendung. Die Kultur fand statt in dem Kolben Fig. 3 bei 30° vom 10. bis 19. Juli. Das verwendete Stickoxydul war das 96 prozentige Gas aus Hydroxylamin. Der Überdruck war wieder gering; 25 ccm Gas, am 19. Juli ausgesogen ergaben:

1	ccm oder	4	Proz. CO_2
20	„ „	80	Proz. N_2O
4	„ „	16	Proz. N_2.

Es waren also nur 16 Proz. des N_2O verschwunden, doch ist die Zahl zu groß, um ein Versuchsfehler sein zu können.

4. Gibt es Stickoxydul zerlegende Bakterien, welche Nitrate nicht denitrifizieren können?

Die Frage muß für Nährlösungen mit und ohne eine andere Quelle gebundenen Stickstoffs wie das Oxydul, gesondert beantwortet werden. Der im vorigen § zuerst beschriebene Versuch scheint zu erweisen, daß das dabei gefundene Spirillum wohl das Oxydul und nicht Nitrate zu denitrifizieren vermag, und zwar bei Abwesenheit anderer Stickstoffverbindungen. Wir glauben das wenigstens ableiten zu müssen aus dem genannten Umstand, daß wir dasselbe niemals bei anderen Denitrifikationsversuchen gefunden haben.

Zur Beantwortung des zweiten Teiles der Frage haben wir unsere Calciummalat-Chlorammon-Kaliumphosphat-Lösung infiziert mit der Reinkultur einer Nitrat nicht denitrifizierenden Art, welche aus einer Calciummalat-N_2O-Kultur isoliert war. In dem Kolben Fig. 3 war vom 10.—19. Juli bei 30 °C nur geringer Überdruck vorhanden, zu schwach, um genügend Gas für die Analyse auszupressen. Darum wurden 30 ccm mit der Quecksilberbürette abgesogen und analysiert, sie ergaben

4 ccm oder 13,5 Proz. CO_2
21 „ „ 70 Proz. N_2O
5 „ „ 16,05 Proz. N_2.

Hier mußte also sicher, wenn auch schwache Oxyduldenitrifikation stattgefunden haben, und also auch Wachstum auf Kosten des Oxydulstickstoffs, trotzdem wir, wie gesagt, keine Denitrifikation von Nitrat mit dieser Bakterie bemerkt hatten.

5. Chemosynthese mit Stickoxydul als Energiequelle.

Das Wort „Chemosynthese" zur Bezeichnung der biochemischen Bildung von Kohlenstoffverbindungen durch Zerlegung von Kohlensäure vermittelst chemischer Energiequellen anstatt des Lichtes, also als Analogon des Wortes „Photosynthese", ist von Pfeffer eingeführt[1] und soll auch hier verwendet werden. Bei der großen Bedeutung dieses Gegenstandes, der sozusagen einen der Wege vorzeichnet, deren Verfolgung uns vielleicht zu tieferer Einsicht in das Problem der spontanen Generation führen wird, erscheint es zweckmäßig, eine kurze Übersicht der bisher bekannten Vorgänge auf diesem Gebiete vorauszuschicken. Es handelt sich um die folgenden Prozesse:

Vorgang	Beobachter	Erreger
1. Luft-Wasserstoff- oder Knallgasoxydation	**T. de Saussure** 1839[2] **M. Niklewski** 1907[3] Wir	Kleine bewegliche Stäbchen, welche eine schleimige Haut auf der Nährlösung erzeugen (Bacillus Saussurei).
2. Ammon- und Nitritoxydation?	**Winogradsky** 1890[4]	Nitrosomonas und Nitrobacter.
3. Oxydation von Thiosulfat und Schwefelwasserstoff	**Natanssohn** 1902[5], Wir	Kleine Stäbchen mit Spirillenbewegung (Thiobacillus thioparus).
4. Oxydation von Tetrathionat	Wir 1902	Wie vorgehend.
5. Denitrifikation mit Schwefel	Wir 1902[6]	Spirillenartige Kurzstäbchen (Thiobacillus denitrificans).
6. Denitrifikation mit Thiosulfat	Wir 1902	Erreger unbekannt.
7. Methanbildung aus Kohlensäure und Wasserstoff	**Söhngen,** Delft 1906[7]	Fermente der Methanbildung.
8. Oxydation des Schwefels durch Luft	**Jacobsen,** Delft 1908	Noch nicht beschriebene Beobachtungen.

Der zweite und wichtigste dieser Vorgänge muß noch mit einem Fragezeichen angedeutet werden, weil Winogradsky nicht bekannt war mit

---

[1] Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Bd. 1. p. 346, 1897.
[2] Mémoires de la Soc. de physique etc. de Génève. T. 8. 1839. p. 163.
[3] Bulletin intern. de l'Acad. des sc. de Cracovie, Dec. 1906.
[4] Annales de l'Institut Pasteur. T. 4 et 5. 1890, 1891.
[5] Mitteilungen aus der Zool. Station zu Neapel. Bd. 15. 1902. Heft 4.
[6] Phénomènes de rèduction produits par les microbes. (Archives Néerland. T. 9. 1903. p. 131.)
[7] Ontstaan en verdwijnen van waterstof en Methaan etc. Dissert. Delft 1906.

B. oligocarbophilus[1]), welcher sich eben bei den Bedingungen der Nitrifikation kräftig entwickelt auf Kosten der organischen Kohlenstoffverbindungen der Laboratoriumsluft, was bei wochenlang andauernden Versuchen auch bei den Nitrit- und Nitratfermenten als möglich vorausgesetzt werden muß, weil es feststeht, daß kleine Quantitäten organischer Stoffe für diese Mikroben sehr förderlich sind.

Dennoch ist es wahrscheinlich, daß hier wirklich Chemosynthese stattfinden kann, jedoch nur allein aus Notbedarf, das heißt nur dann, wenn alle organischen Nahrungsstoffe fehlen. Das wäre gänzlich analog mit der Photosynthese bei Chlorella, Stichococcus, Pleurococcus, Chlamydomonas und anderen niederen Algen, welche im Lichte nur dann Kohlensäure zerlegen, wenn keine geeignete organische Nahrung erreichbar ist.

Bezüglich des ersten, dritten und vierten Vorganges läßt sich derselbe Einwand nicht erheben, denn sie verlaufen in wenigen Tagen, also viel zu schnell, als daß die Mikroben aus der winzigen organischen Kohlenstoffquelle der Atmosphäre schöpfen könnten, welche nur deshalb für B. oligocarbophilus (und vielleicht die Fermente der Nitrifikation) zureichend ist, weil deren Wachstum sehr langsam verläuft und erst nach Wochen beträchtlich wird. Überdies ist die Hinzufügung organischer Kohlenstoffquellen, wenigstens für die Vorgänge 3, 4, 5 und 6 bestimmt nachteilig.

Bei der Denitrifikation mit Schwefel und Thiosulfat kann auch darum nur an Chemosynthese gedacht werden, weil der Verlauf davon in geschlossenem Raume stattfindet, wo nur minimale Luftblasen eindringen können[2]).

Der oben gegebenen Aufzählung der bisher bekannten Chemosynthesen können wir nun als neues Beispiel einen Vorgang zufügen, wobei als Energiequelle einerseits die Oxydation des Wasserstoffs, andererseits die exothermische Spaltung des Stickoxyduls zugrunde liegt, nach der Formel:

$$N_2O + H_2 = H_2O + N_2.$$

Dieses entspricht einer Volumverminderung des ursprünglichen Gasgemisches bis auf die Hälfte, und der Verlauf der Reaktion ist deshalb festzustellen, wenn dieselbe in geschlossenem Raume stattfindet.

Wir verwendeten für den Versuch den Kulturapparat von Dr. Söhngen Fig. 4, worin die Füllung wie folgt stattfand: Der Kolben a war für die Kultur bestimmt und wurde anfangs gänzlich mit der Nährlösung

Leitungswasser	100
Bikaliumphosphat	0,02
Chlorammon	0,02
Natriumbicarbonat	0,1

beschickt, worin als Impfmaterial etwas Gartenerde aufgeschüttelt war. Im kurzen Röhrchen oberhalb b wurde dann am 28. Mai die Gaszuleitung aufgesetzt, die Hähne b und c geöffnet und 150 ccm N_2O + 150 ccm H_2

---

[1]) Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 10. 1903. p. 33.

[2]) Bezüglich der Denitrifikation mit Schwefel muß ich noch bemerken, daß dieser Vorgang oft schwierig einzuleiten ist. Man tut am besten, dafür ziemlich, aber nicht allzu fein zerteilten oder zermahlenen Schwefel zu verwenden (kein Sulfur precipitatum der Apotheken) und mit viel Grabenmoder zu infizieren. Einmal im Gange, handelt es sich dabei jedoch um einen sehr energischen Vorgang, wobei jedes kleinste Stückchen Schwefel in einen eng anschließenden Bakterienpanzer eingehüllt ist, welcher soviel organisches Material enthält, daß jeder Zweifel an Chemosynthese aus Kohlensäure ausgeschlossen ist. Im Gärungsgase wurde kein Stickoxydul gefunden.

oberhalb der in a zurückbleibenden Flüssigkeit gelassen. Das verwendete Gas war beinahe gänzlich sauerstoffrei und enthielt nur 4 Proz. N_2. Die Kultur fand bei 30° C statt.

Schon nach 3 Tagen war eine Trübung in der Flüssigkeit entstanden und deutlich Druckverminderung in a bemerkbar, welche sich dadurch ablesen ließ, daß beim Öffnen des Hahnes c das Niveau bei a nach oben, bei d nach unten ging, und zwar, wie durch ein angebrachtes Merkzeichen angegeben wurde, wurden in jener Zeit ca. 150 ccm übergehebert, also ein so großes Volum, daß eine starke Absorption des Gases sichergestellt und gänzliches Verschwinden des Wasserstoffes wahrscheinlich war.

Auf der Oberfläche der Flüssigkeit in a hatte sich eine dünne, schleimige, treibende Haut gebildet, welche der unter ähnlichen Bedingungen entstehenden Haut in Luft und Wasserstoff von Bacillus Saussurei zwar äußerlich ähnlich, mikroskopisch davon jedoch beträchtlich verschieden war. Hier handelt es sich nämlich um kleine, nicht bewegliche Kurzstäbchen, während die Saussureihaut größtenteils aus zwar unbewegten, jedoch beweglichen Stäbchen besteht, die, sobald sie freikommen, fortschwimmen.

Aussaaten von der Stickoxydul-Wasserstoff-Bakterienhaut auf verdünnten Fleischbouillon-Agar haben die bezügliche Bakterie noch nicht geliefert, wahrscheinlich ist für deren Kultur ein ärmeres Nährsubstrat notwendig, als wie für B. Saussurei. Merkwürdigerweise entwickelten sich auf der Fleischbouillonplatte, wie bei den Methanoxydationsversuchen von Dr. Söhngen[1]), mehrere Keime von B. pyocyaneus, welcher hier jedoch sicher nicht das primäre Agens der Oxydation, sondern ein sekundärer Symbiont war, welcher von den bei der Chemosynthese gebildeten organischen Körpern lebte.

Für die Gasanalyse wurden am 8. Juni 29 ccm herausgesogen. Diese enthielten keine Kohlensäure.

Für die Untersuchung auf Wasserstoff wurden 14 ccm mit der gleichen Luftmenge vermischt und sowohl der Explosion unterworfen, wie in der Drehschmidt'schen Kapillare verbrannt, jedoch ohne daß dabei eine Volumverminderung bemerkbar war. Wasserstoff fehlte also gänzlich.

Es wurden nun wieder 14 ccm Gas herausgenommen, mit 14 ccm Wasserstoff vermischt und aufs neue in der Drehschmidt'schen Kapillare verbrannt, ebenfalls ohne Kontraktion, so daß auch das Stickoxydul fehlte und also aus dem Kulturkolben gänzlich verschwunden und in Stickstoff verwandelt war.

In einem Kontrollekolben mit gleichem Inhalt, jedoch mit sterilisierter Erde versetzt, anstatt mit lebendem Impfmaterial, konnte keine Veränderung in dem Gaszustand gefunden werden, nachdem die Flüssigkeit sich mit Gas gesättigt hatte und dann wochenlang bei 30° aufbewahrt wurde.

Dieser Versuch war also vollständig überzeugend.

Wir haben dann in denselben Apparat eine neue, aus gleichen Teilen Wasserstoff und Stickoxydul bestehende Gasmenge zugelassen, und nach einigen Tagen wieder, wenn auch schwächere Kontraktionen beobachtet.

Inzwischen war die treibende Bakterienhaut nach unten gesunken, und ein damit eingeimpfter neuer Kolben hat zwar wieder unter gleichen Bedingungen die Zerlegung von $N_2O + H_2$ gezeigt, nicht aber in gleichem Maße wie die Rohkultur, so daß die nähere Beschreibung des Versuches überflüssig erscheint, um so mehr weil die chemosynthetische Kohlensäurezerlegung vermittelst der Wasserstoffstickoxydulmethode durch obige Versuche, wie wir meinen, unzweifelhaft erwiesen ist.

---

[1]) Versl. d. Kon. Akad. van Wetensch. Amsterdam. Dl. 14. 1905. p. 289.

Bevor wir diese Betrachtungen abschließen, sei noch darauf hingewiesen, daß wir bisher vergeblich versuchten, Methan mit Stickoxydul durch Mikroben zu zerlegen. Und ferner, daß wir glauben, daß Schwefel und Schwefelwasserstoff für die Chemosynthese mit N_2O, wenn auch schwieriger, sich auf ähnliche Weise eignen als wie für die obengenannten Chemosynthesen mit Luft und mit Nitraten. Jedenfalls war bei der Denitrifikation mit Schwefel kein N_2O, sondern allein CO_2 und N_2 im Gärungsgase nachweisbar. Doch sind in dieser Beziehung unsere Versuche noch nicht beendet.

Zusammenfassung.

Fassen wir zunächst die Resultate zusammen, welche wir bezüglich der Stickoxydulbildung gefunden haben, so ergibt sich folgendes:

1) Abgesehen von der Chemosynthese mit Schwefel und Nitraten als Grundlage, kommt Denitrifikation mit alleiniger Stickstoffbildung, also ohne Stickoxydul, als selbständiger, jedoch vorübergehender, bei der Überimpfung mißlingender Prozeß nur vor unter dem Einfluß anaërober Granulobacter-Arten in Gärungen mit Kohlehydraten als Kohlenstoffquelle. Dabei entwickelt sich zugleich Wasserstoff und findet Ammonbildung aus einem Teile des Nitrates statt. Übrigens liefern die denitrifizierenden Mikroben bei allen anderen untersuchten Kulturbedingungen Stickoxydul neben freiem Stickstoff, wenn auch in stark wechselnden Verhältnissen.

2) Bouillon mit 5 bis 12 Proz. Nitraten gibt bei 20° bis 37° und mit Erde als Infektionsmaterial einen Gasstrom mit mehr als 80 Proz. N_2O, so daß ein glühender Span sich darin entzündet. Bei geringerem Nitratgehalt entsteht relativ weniger Oxydul und mehr freier Stickstoff. Der hauptsächlich dabei tätige Mikrobe ist der polymorphe Sporenbildner Bacillus nitroxus mit seinen Unterarten.

Auch im Boden dürfte Bacillus nitroxus der Hauptdenitrifikator sein.

3) Mit Reinkulturen von Bacillus pyocyaneus, kultiviert in Bouillon mit 1 Proz. Nitrat entsteht bei 37° ein Gärungsgas mit 65 bis 72 Proz. Stickoxydul.

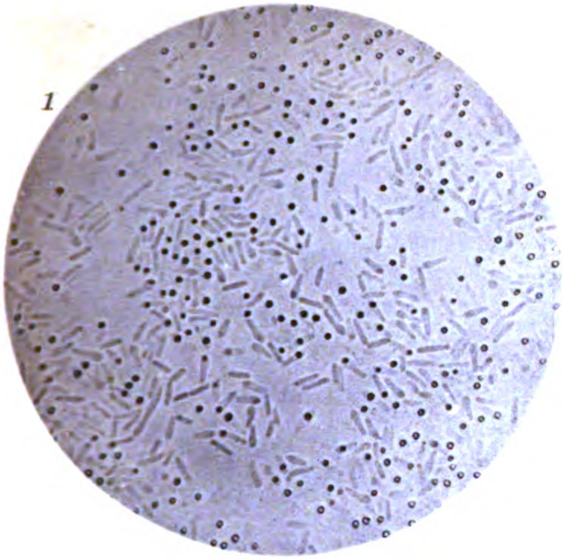
Etwas ähnliches sagen Gayon und Dupetit bezüglich ihres Mikroben *α* (wohl B. pyocyaneus), wenn kultiviert in Ammoncitrat-Asparagin-Nitratlösung.

4) Bacillus Stutzeri, rein, liefert bei 37° in Bouillon mit 1 Proz. Ammonnitrat Gärungsgas mit 10 Proz. N_2O, in Bouillon mit 2 Proz. NH_4NO_3 Gas mit 20 Proz. N_2O.

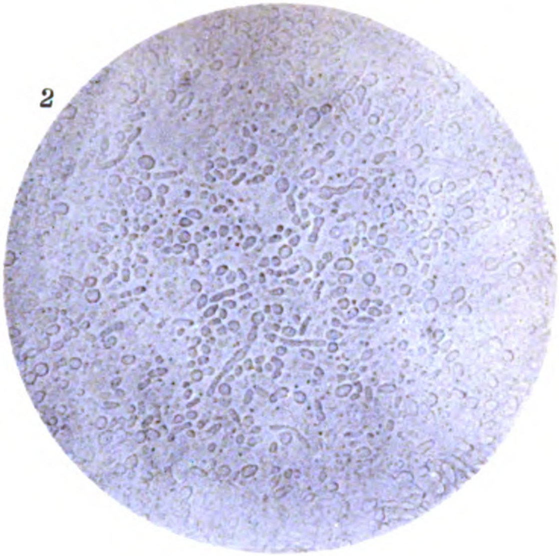
5) Unser aus 1 Proz. Seignettesalz 1 Proz. Kaliumnitrat isolierter Micrococcus denitrificans lieferte bei 37° in Bouillon mit 1 Proz. NH_4NO_3 Gas mit 20 Proz. N_2O und 42 Proz. N_2.

6) Denitrifikation durch Sporenbildner ist in den Rohkulturen intensiver, wie in den Reinkulturen. Dieses kann nicht allein durch die Gegenwart der Symbionten erklärt werden, doch hängt es zusammen mit den Eigenschaften der Keime selbst, wahrscheinlich derweise, daß auf den aëroben Platten nur die schwächer denitrifizierenden Individuen zur Entwicklung gelangen.

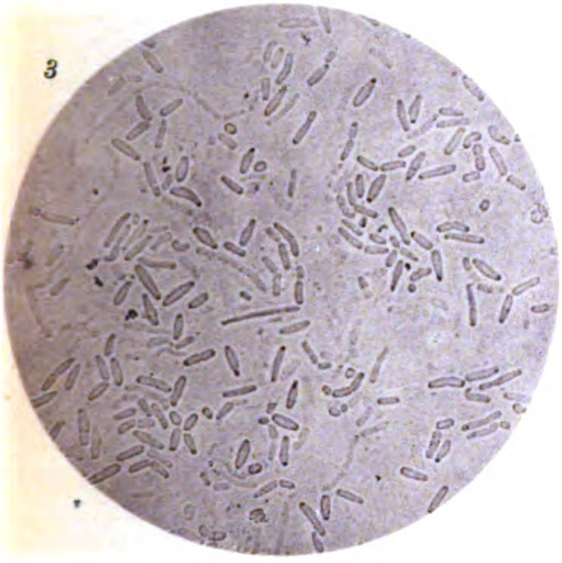
1



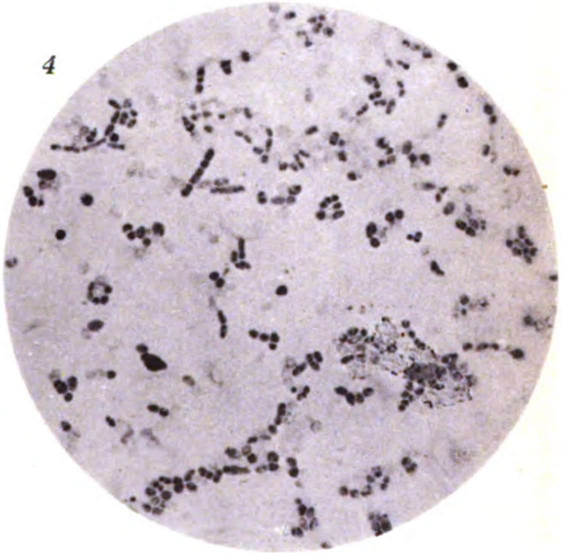
2



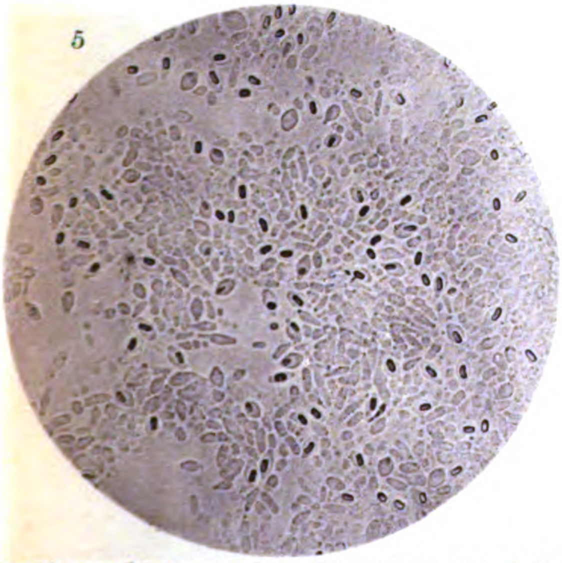
3



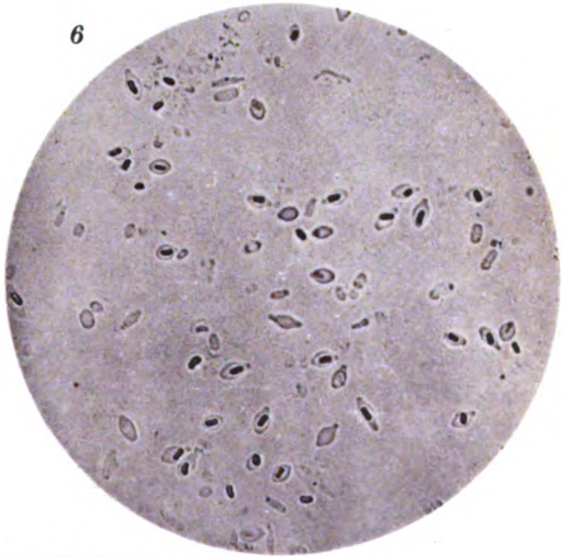
4



5



6



1 *Bacillus sphaerosporius.* 2, 3, 4, 5 *und* 6 *Bacillus nitroxus.*

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

7) Kleine Mengen von Stickoxydul müssen sowohl im Boden wie in der Atmosphäre gegenwärtig sein.

Die Versuche bezüglich des Verbrauches des Stickoxyduls haben folgendes ergeben:

1) Besonders die denitrifizierenden Bakterien zerlegen bei günstigen Ernährungsbedingungen das Stickoxydul mit Leichtigkeit, wobei Stickstoff abgetrennt, der Sauerstoff zu Kohlensäure wird. Bacillus Stutzeri besitzt diese Eigenschaft in starker Ausbildung, was die Hauptursache der geringen Stickoxydulbildung durch diese Art ist, und zugleich das gute Anhäufungsverfahren dafür erklärt, wenn anstatt Nitrat Stickoxydul verwendet wird.

2) Stickoxydul kann für einige Bakterien, worunter ein Spirillum, als Sauerstoffquelle dienen und verhindert das Wachstum von Azotobacter.

3) Es gibt Bakterien, welche Nitrate nicht direkt denitrifizieren, wohl aber das durch andere Arten gebildete Stickoxydul zersetzen können.

4) Die bisherige Theorie des Denitrifikationsprozesses:

$$2\ NO_3K + C \ldots = 2\ NO_2K + CO_2$$
$$4\ NO_2K + 3\ C \ldots = 2\ N_2 + 2\ CO_3K_2 + CO_2$$

muß durch eine andere, innerlich wahrscheinlichere ersetzt, nämlich:

$$2\ NO_3K + C \ldots = 2\ NO_2K + CO_2$$
$$2\ NO_2K + C \ldots = N_2O + CO_3K_2$$
$$2\ N_2O + C \ldots = 2\ N_2 + CO_2$$

und zu gleicher Zeit mit folgendem Vorgange ergänzt werden:

$$2\ NO_3K + 2\ C \ldots = N_2O + CO_3K_2 + CO_2.$$

5) Zu den bekannten Chemosynthesen konnte als neu hinzugefügt werden die Kohlensäurezerlegung durch einen Mikroben, welcher seine Energie erhält, indem aus Wasserstoff und Stickoxydul bei Gegenwart von Chlorammon und Natriumbicarbonat Wasser erzeugt wird.

Tafelerklärung.

Die Vergrößerung ist überall 720mal. Die Aufnahme geschah mit Obj. Zeiß Apochromat 2,5 mm Wasserimmersion und Project. Ocular 2.

Fig. 1. Bacillus sphaerosporus. Kultur auf Fleischbouillongelatine, 3 Tage alt, lebend.

Fig. 2. Bacillus nitroxus. Kultur auf Fleischagar, 2 Tage alt, lebend.

Fig. 3. Bacillus nitroxus. Kultur auf Erbsenlaubagar, 2 Tage alt, lebend.

Fig. 4. Wie vorgehend, gefärbt mit Carbolfuchsin.

Fig. 5. Bacillus nitroxus. Kultur auf Erbsenlaubagar, 3 Tage alt, in Sporenbildung begriffen, lebend.

Fig. 6. Eine andere Stelle von vorgehendem Präparate, lebend aufgenommen.

Delft, im September 1909.

Nachdruck verboten.

Studies in Soil Bacteriology. III.

Concerning methods for determination of nitrifying and ammonifying powers.[1]

By **F. L. Stevens** and **W. A. Withers.**[2]

With 4 curves in the text.

Nitrate nitrogen is generally believed to be the most readily available and most valuable form of nitrogen for plants. If this view be true, even in part, means of measuring the ability of various soils to produce nitrate nitrogen, to nitrify, are desirable, since on the nitrifying power of the soil would depend to some extent, possibly to a large extent, its productivity. To determine nitrifying power; to recognize deficiencies in nitrifying power; to ascertain the cause of such deficiencies when they exist and to find means of correcting them, all require quantitative studies of this factor of soil fertility. To make quantitative determinations of nitrifying power that shall be of broad utility and general value, methods which may be regarded as standard must be devised and their trustworthiness recognized. The biological equilibrium in soils is one of utmost instability and variations in methods are likely to lead to great discrepancies in results.[3] These facts have been constantly forced upon us during the investigations of the past few years and have led us to the consideration of the question of uniform methods in this regard, the results of which we herewith present.

Nitrifying indices.

Three conditions to be recognized in considering the nitrifying ability of a soil are:

1) The nitrifying organisms present.
2) The physical and chemical fitness of the soil for the proper functioning of these organisms.
3) The nitrifying efficiency of the soil and the organisms existing in it.

Nitrification inoculating power (N. I. P.).

The first index may be called the Nitrification Inoculating Power, which may be abbreviated as NIP: It recognizes only the factor of the live organisms present, taking no account of the fitness or unfitness of the soil for their activity. It does not regard bacterial species but merely the complex present in the soil at the time it is tested.

Theoretically, the N. I. P. may be high in a soil in which, owing to adverse chemical or physical conditions, no nitrification really occurs. Theoretically, nitrifying bacteria may be present in goodly numbers in a soil possessing physical and chemical conditions favorable to rapid nitrification, yet no nitrate appear, owing to the presence of other species of bacteria or of substances which either inhibit the action of the nitrifiers or destroy the nitrate which they produce so that nitrate does not appear as a final product. N. I. P. considers only the efficiency of the organisms present to give nitrate as a final product under circumstances favorable to their growth.

---

[1] Read at the North Carolina Academy of Science. May 1, 1909. Durham N. C.

[2] Assisted by J. C. Temple, W. A. Syme, J. K. Plummer and P. L. Gainey.

[3] Stevens and Withers, Studies in soil bacteriology. I. Nitrification in soils and in solutions. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909. p. 355).

Nitrifying capacity. (N. C.)

The second index, fitness of the soil as regards factors other than its content of living things, i. e., its capacity to support nitrification provided proper organisms be present, may be designated as its Nitrifying Capacity, abbreviated as N. C. N. C. regards only the non living factors. Theoretically, a soil may be of high N. C. but still fail to nitrify owing to lack of proper organisms, i. e., to lack of proper N. I. P. Theoretically, a soil may be of low N. C. yet show high N. I. P. N. C. will on final analysis be found to depend upon physical conditions and chemical composition, including water content.

Nitrifying efficiency. (N. E.)

The third index may be designated as the Nitrifying Efficiency of the soil, abbreviated N. E., which regards the efficiency of the soil as a whole to produce nitrates as a final product. N. E. may be low owing to lack of N. I. P. or to lack of N. C., or both. N. E. will be high if there be high N. I. P. associated with high N. C.

Proper determination of N. E. will show whether a given soil is in normal vigorous nitrifying condition; if such is not the case, determination of N. C. and N. I. P. will show whether it is the bacterial or non bacterial factors which are at fault and may lead the way to correction of existing defects.

Conditions for determining these indices.

To make each of these indices of the greatest value the determination must be made as nearly as possible under the conditions that normally obtain in the field. Field conditions are highly variable from season to season, even from hour to hour, and may never be twice exactly alike. They can therefore be only approximated.

Since the soil temperature is extremely variable, sometimes above, sometimes below the optimum for nitrification, it seems best to employ the optimum temperature as standard.

Since the water relation is of dominating importance[1]) the amount of water in the soil cultures should imitate the natural condition of the soil that is to be tested. If this soil be one that is normally saturated or under water, swampy, the cultures should provide these conditions. It is difficult to determine the degree of saturation which best imitates the condition of a normal well drained field. During, and shortly after rain, it is saturated. It rapidly dries and until another rain occurs, is considerably below saturation. Since, however, the greater part of the nitrification that does occur must occur during a period approximating the water content optimum, for nitrification it seems best to use, as nearly as is practicable, this degree of saturation for all soils, other than soils normally saturated as mentioned above.

Preliminary experiments.

Preliminary experiments were made to ascertain several factors of importance in deciding upon methods, such as the optimum water relation, the effects of different modes of aeration, etc., upon nitrification when soils constitute the medium. The results of these experiments are as follows:

---

[1]) **Stevens** and **Withers**, Studies in soil bacteriology. I. Nitrification in soils and in solutions. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909. p. 355.)

Experiment 2. To determine thermal death point of nitrifying organisms in soil. Forty grams of soil 1867, which had shown nitrifying power, with nitrogen added as asparagin, were put in each of six large test tubes. A tube of this soil was kept in the water bath, which had a temperature of 35° for ten minutes after the temperature of the soil in a tube under similar conditions had reached 35°. Other tubes were in the same way exposed to temperature of 40°, 45°, 50°, 55° and 60°.

Six sterile flasks, each of 400 g of soil 1867, containing 240 milligrams of nitrogen as asparagin, were then inoculated with the 20 g of soil, one flask from each of the tubes, and allowed to stand 4 weeks, when the nitrate present was determined.

The nitrification resulting was as follows:

		% of Nitrate.
Soil heated to	35°	27,36
,, ,, ,,	40°	30,28
,, ,, ,,	45°	35,24
,, ,, ,,	50°	38,16
,, ,, ,,	55°	24,28
,, ,, ,,	60°	00,00[1])
check, not inoculated		000[1])
check, not inoculated		000[1])

It is seen that the thermal death point lay between 55 and 60, a conclusion in accord with previously reported results.[2])

Experiment 76. To determine the influence of access of air. Two sets of cultures were made, one with flasks cotton plugged in the usual manner, one with flasks hermetically sealed.

The results are given in Table 1.

Table No. 1.

Effect of sealing flask upon nitrification.

Inoculated Feb. 27, 1908, incubated 4 weeks, medium live soil 1867 400 grams + 240 milligrams of nitrogen as cottonseed meal.

Sample No.	Condition of aeration	Percent of initial nitrogen Recovered as:		
		Ammonia	Nitrite	Nitrate
2115	sealed	35,71	0,00	0,00
2116	sealed	23,11	0,00	0,00
2117	not sealed	0,70	tr.	35,39
2118	not sealed	0,00	tr.	25,99

The first time this experiment was tried the sealed flasks broke from internal pressure; the second time, escape of gases was provided for by a water seal.

The entire absence of nitrification in the sealed flasks quite precludes the use of such flasks in determining nitrifying indices though for the purpose of avoiding evaporation, sealed flasks would be desirable.

---

[1]) No nitrate indicated by diphenylamine.

[2]) Lafar, Technische Mykologie. III.

To ascertain whether the degree of compactness of the soil in the flask is of influence upon nitrification, cultures were set up with 400 g of live soil 1867 + 240 mgs of nitrogen as cottonseed meal or ammonium sulphate. The soil in two flasks was tightly compacted, in two others loosely sifted in; in two others the soil was removed and sifted twice weekly to give more complete aeration. Two other cultures were made in shallow dishes having an area each of 400 sq. cm. to give still more free aeration, but were covered with bell jars to prevent drying. Analyses were made at the end of 4 weeks.

The results appear in Table 2.

Table 2.

To ascertain the effect upon nitrification of degree of compactness of soil. 400 grams soil 1867, 240 milligrams nitrogen. Set up. Dec. 15, 1908. Incubated 6 weeks.

Condition of experiment			Results of experiment	
No.	Condition of Soil	Form of Nitrogen	Percent of nitrogen found	as nitrate
1991	compact	Cottonseed meal	62,6	—
1992	compact	Ammonium sulphate	—	76,1
1993	loose	Cottonseed meal	63,6	—
1994	loose	Ammonium sulphate	—	70,5
1995	sifted	Cottonseed meal	74,2	—
1996	sifted	Ammonium sulphate	—	73,0
1997	In open dish	Cottonseed meal	26,0	—
1998	In open dish	Ammonium sulphate	—	16,3

It is seen that with neither of these forms of nitrogen is the effect of the compactness of the soil as shown in the first six flasks of much influence upon nitrification under the conditions of the experiment. The low nitrification in the shallow dishes may have been caused by molds which developed to some extent in these cultures.

Experiment 210. Sept. 7, 1908. To determine whether the optimum degree of saturation for pure cultures is the optimum for the bacterial complex of soil 1867. Four-week cultures were made in sterile soil 1867 + 240 mgs. of nitrogen as ammonium sulphate, with different degrees of saturation, and inoculations were made with suspension from soil 1867 in some instances, with pure cultures of nitrifying organisms in other cases. The pure cultures consisted of a vigorous nitrite former and a vigorous nitrate former, isolated by the Stevens-Temple Silicate Jelly Plate.[1])

They were pure in the sense employed by Winogradsky in that they did not render buillon cloudy. They gave the following nitrogen changes:

Table 3a.

Culture of	gave
Nitrite organism in Ammonium solution	Nitrite
Nitrate organisms in Ammonium solution	No nitrate and no nitrite
Nitrate organisms in Nitrite solution	Formed nitrate
Nitrite organisms in Nitrate solution	No denitrification
Nitrate organisms in Nitrate solution	No denitrification

---

[1]) Stevens, F. L., and Temple, J. C., A convenient mode of preparing silicate jelly. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 21. 1908. p. 84.)

The results of experiment 210 are given in table 4.

Table 4.

Experiment 210.

No.	Conditions		Results			
	Degree of Saturation	Inoculum Kind	Amount	Percentage of initial nitrogen Recovered as:		
				Ammonia	nitrite	nitrate
2606	1/3	Nitrite + Nitrate	1 cc each	45,51	0,15	12,53
2607	1/3	Organisms	,, ,,	46,35	0,38	11,06
aver				45,93	0,26	11,78
2608	2/3	,, ,,	,, ,,	38,51	1,87	13,16
2609	2/3	,, ,,	,, ,,	39,21	1,87	12,50
aver				38,81	1,87	12,83
2610	complete	,, ,,	,, ,,	44,11	0,07	0,00
2611	complete	,, ,,	,, ,,	44,74	tr.	0,00
aver				44,47	0,04	0,00
2612	1/3	Susp. Soil 1867	10 cc	51,81	0,13	20,98
2613	1/3	,, ,,	,,	54,61	0,12	17,54
aver				53,21	0,13	19,26
2614	2/3	,, ,,	,,	56,02	0,10	12,84
2415	2/3	,, ,,	,,	55,45	0,08	12,62
aver				55,73	0,09	12,73
2616	complete	,, ,,	,,	63,02	tr.	0,00
2617	complete	,, ,,	,,	broken	tr.	tr.
aver				63,02	tr.	0,00

It is seen that the optimum for the pure culture differs from that of the soil 1867 and that no appreciable nitrification occurred under conditions of saturation with either inoculum.

Experiment 240. To determine the optimum degree of saturation of soil No. 1931 and the effects of slight variation in water content. 400 g of sterile soil No. 1931 + 240 mg of nitrogen as ammonium sulphate were inoculated with 10 ccm of suspension of soil 1867. Flasks were set up in duplicate carrying water to give 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, and 75 % of saturation. The results are presented in Table 5.

Table 5.

Experiment 240.

No.	Conditions		Results		
	Water added		Percentage of initial nitrogen. Recovered as:		
	cc.	% of saturation	Nitrites	Nitrates	Nitrites and Nitrates
3128	48	25	0,45	2,68	3,13
3129	48	25	0,52	4,18	4,70
aver	48	25	0,49	3,43	3,92
3130	—	—	tr.	0,00	tr.
net	—	—	0,49	3,43	3,92

	Conditions		Results		
No.	Water added		Percentage of initial nitrogen. Recovered as:		
	cc.	% of saturation	Nitrites	Nitrates	Nitrites and Nitrates
3131	58	30	0,75	5,51	6,26
3132	58	30	0,45	8,32	8,77
aver	58	30	0,60	6,92	7,52
3130	—	—	tr.	0,00	tr.
net	—	—	0,60	6,92	7,52
3134	67	35	1,50	8,53	10,03
3135	67	35	0,60	12,44	13,04
aver	67	35	1,05	10,49	11,54
3130	—	—	tr.	0,00	tr.
net	—	—	1,05	10,49	11,54
3136	77	40	1,00	18,40	19,40
3137	77	40	0,75	18,04	18,79
aver	77	40	0,88	18,22	19,10
3130	—	—	tr.	0,00	tr.
net	—	—	0,88	18,22	19,10
3138	86	45	1,35	23,39	24,74
3139	86	45	1,35	26,21	27,56
aver	86	45	1,35	24,80	26,15
3130	—	—	tr.	0,00	tr.
net	—	—	1,35	24,80	26,15
3140	96	50	1,20	27,62	28,82
3141	96	50	0,45	27,74	28,19
aver	96	50	0,83	27,68	28,52
3130	—	—	tr.	0,00	tr.
net	—	—	0,83	27,68	28,52
3142	106	55	0,45	28,99	29,44
3243	106	55	0,45	29,62	30,07
aver	106	55	0,45	29,31	29,76
3130	—	—	tr.	0,00	tr.
net	—	—	0,45	29,31	29,76
3144	115	60	1,20	36,28	37,58
3145	115	60	1,45	38,64	40,09
aver	115	60	1,33	37,51	38,84
3130	—	—	tr.	0,00	tr.
net	—	—	1,33	42,51	38,84
3146	125	65	0,30	49,81	50,11
3147	125	65	0,30	51,06	51,36
aver	125	65	0,30	50,44	50,74
3130	—	—	tr.	0,00	tr.
net	—	—	0,30	50,44	50,74
3148	134	70	0,30	52,94	53,24
3149	134	70	tr.	51,36	51,36
aver	134	70	0,15	52,15	52,30
3130	—	—	tr.	0,00	tr.
net	—	—	0,15	52,15	52,30
3150	144	75	0,30	36,66	36,96
3151	144	75	0,38	34,71	35,09
aver	144	75	0,34	35,69	36,03
3130	—	—	tr.	0,00	tr.
net	—	—	0,34	35,69	36,03

These facts are presented graphically in the following curve. It is seen that there is a gradual increase in nitrification with the increase in water content up to 70 % of saturation and that beyond that point nitrification falls off rapidly with increase in water content.

Experiment 211. Sept. 10, 1908. To determine whether the degree of saturation that is optimum for one soil is optimum for others. Three sterile soils of very different saturation capacity were mixed with 240 mgs. of nitrogen as ammonium sulphate, inoculated with 10 cc. of suspension of soil 1867, and incubated 4 weeks.

The results are given in Table 6.

Table 6.

To ascertain whether the degree of saturation that is optimum for nitrification in one soil is optimum for other soils. Used 400 grams sterile soil, inoculated with 10 cc of suspension of 1867. 240 milligrams nitrogen as ammonium sulphate. Set up Sept. 10, 1908. Incubated 28 days.

No.	Condition of experiment 211			Results of analysis		
	Medium	Water added		Milligrams nitrogen in 100 cc sol		
				Percentage of initial nitrogen as		
	Soil	cc	degree of saturation	Ammonia	Nitrite	Nitrate
2619	1549	30	1/3	41,31	0,43	13,57
2620	1549	30	1/3	39,91	0,83	14,10
aver	1549	30	1/3	40,61	0,63	13,83
2621	1549	60	2/3	24,51	2,25	24,29
2622	1549	60	2/3	24,09	3,37	26,08
aver	1549	60	2/3	24,30	2,81	25,18
2623	1549	100	3/3	50,41	0,10	0,00
2624	1549	100	3/3	52,79	0,10	0,00
aver	1549	100	3/3	51,60	0,10	0,00
2625	1783	48	1/3	25,21	0,90	23,49
2626	1783	48	1/3	28,01	1,80	21,94
aver	1783	48	1/3	26,61	1,35	22,21
2627	1783	100	2/3	16,80	0,25	23,82
2628	1783	100	2/3	22,41	0,37	22,86
aver	1783	100	2/3	19,60	0,31	23,33
2629	1783	144	3/3	63,02	0,10	0,00
2630	1783	144	3/3	57,42	0,12	0,00
aver	1783	144	3/3	60,22	0,11	0,00
2631	1931	60	1/3	35,01	0,23	44,79
2632	1931	60	1/3	26,01	0,23	46,67
aver	1931	60	1/3	30,51	0,23	45,73
2633	1931	120	2/3			
2634	1931	120	2/3	8,40	tr.	82,00
aver	1931	120	2/3			
2635	1931	180	3/3	43,41	0,10	tr.
2636	1931	180	3/3	45,51	0,10	tr.
aver	1931	180	3/3	44,46	0,10	tr.

In this case each soil did better in soil culture of 2/3 saturation than in either 1/3 or complete saturation, though the degree of effect of this factor varies with the different soils, soil 1783 giving results about equal at 1/3 and 2/3 saturation, while the two other soils show nearly 100 % better results at 2/3 than at 1/3 saturation.

From the last three experiments considered together, we must conclude that for different soils or different inoculums there are different optima of saturation.

Table 7.

Experiment 202. Showing effect of soil, i. e. N. C. upon nitrification. July 13, 1908. nitrogen 240 milligrams as ammonium sulphate inoculum 10 cc. suspension of soil 1867, medium, soil, 400 g.

Conditions		Results		
No.	Medium	Percent of initial nitrogen recovered as: Ammonia	Nitrite	Nitrate
2398—9	Sterile 1867	15,41	trace	17,75
2400—1	Sterile 2250	31,86	trace	0,00
2402—3	Sterile 2404	63,72	trace	0,00

It is here seen that the same inoculum failed to induce nitrification in two soils though it brought about marked nitrification in the other soil, showing clearly the effect of the soil itself upon nitrification, i. e., of the necessity of recognition of what we here term nitrifying capacity, (N C).

Experiment 231. To determine whether with different inoculums different rank is given to soils as to their N C. Period four weeks, medium sterile soil 400 grams, nitrogen 240 milligrams as ammonium sulphate.

Table 8.

Conditions of Experiment			Results		
No.	Began experiment	Medium sterile soil No.	Inoculum suspension of soil	% of initial nitrogen recovered as nitrites and nitrates	Rank in N. C.
2949—51	12/3/08	1549	No. 1867	0,00	—
2952—54	12/3/08	1783	No. 1867	0,00	—
2955—57	12/3/08	1931	No. 1867	9,09	1
2958—60	12/3/08	2069	No. 1867	0,00	—
2961—63	12/7/08	1549	Filter bed	5,10m	2
2964—66	12/7/08	1783	Filter bed	3,89m	3
2967—69	12/7/08	1931	Filter bed	12,85	1
2971—72	12/7/08	2069	Filter bed	0,60	4
2993—95	12/14/08	1549	N. J. Soil	0,00	—
2996—98	12/14/08	1783	N. J. Soil	0,00	—
2999—3001	12/14/08	1931	N. J. Soil	0,00	—
3002—04	12/14/08	2069	N. J. Soil	0,00	—
3022—24	12/21/08	1549	Wis. Soil	0,00	—
3025—27	12/21/08	1783	Wis. Soil	4,36m	2
3028—30	12/21/08	1931	Wis. Soil	6,58p	1
3031—33	12/21/08	2069	Wis. Soil	0,00	—

m signifies that the duplicate samples agreed well.
p signifies that the duplicate samples did not agree well.

It is here seen that though soil 1931 gave the highest N. C. with each inoculum used, there is variation in N. C. as determined by the use of different inoculums since Nos. 1549 and 1783 failed to nitrify when inoculated with suspension of 1867 though one of them nitrified when inoculated with the Wisconsin suspension and both when inoculated with the filter bed suspension.

Results of preliminary tests of N. E. and of N. I. P. determined in soils and N. I. P. determined in solutions.

The soils tested.

The soil from Geneva was sent by Mr. H. A. Harding with the statement that it came from a field „which has been in grass for many years, having been plowed up and borne one crop of corn. The land is of fairly stiff clay and of course well supplied with organic matter".

The soil from New Jersey supplied by Dr. Lipman was a red shale „which had been neglected for many years, but which has received thorough cultivation for the last three years". The other was from „an area which has been receiving application of 10—20 tons of manure annually for more than fifteen years".

The soil from District of Columbia supplied by Dr. Kellerman was a very rich, black, sandy loam which was said to be of good nitrifying power. The soil from Michigan supplied by Prof. W. S. Sayer was a „black soil from a low plot but well drained. It was used for celery last year and for potatoes this year after a heavy coat of barnyard manure".

The soil from Wisconsin is described by A. R. Whitson of the Wisconsin Experiment Station as follows: „From a field of clay loam soil of glacial drift origin in a limestone region. The subsoil is sandy at a depth of three to five feet. The surface drainage is fairly poor, underdrainage is good. The field has been in alfalfa perhaps three-fourths of the time the past twelve years. During that time it has had top dressings of manure at about fifteen to twenty loads to the acre every three years. It is Plot No. 8 as described in Professor F. H. King's reports on field work in the annual reports of this Station from the fourteenth to the twentieth. It has grown two or three other crops of corn and oats."

Two of these soils supplied by Dr. Stephen DeM. Gage were from the sewage filter beds Nos. 1 and 9 of Lawrence, Mass., „which were yielding a highly nitrified effluent".

The Georgia soil supplied by Mr. J. C. Temple was from a rich sandy loam garden.

All of these soils were sent in response to requests for soils most promising as nitrifiers.

Experiments 218, 219, 221. Determination of N. E. and N. I. P.

These experiments were conducted after the manner already reported and are sufficiently explained by the accompanying summary.

Summary of results of Experiments 218, 219, 221.

Table 9.

No.	Soil	N E	Rank	N I P in soil	Rank	N I P in solution	Rank
1	Filter No. 1	32,4 m	5	12,5	4	5,0	4
2	Filter No. 9	56,0	4	25,8	2	10,7	1
3	Michigan	85,2	1	12,2	5	2,9	6
4	Wisconsin	77,4	2	15,5	3	6	3
5	New Jersey, H.	4,6	6	54,0	1	4,4	5
6	New Jersey Red Shale	70,5	3	4,7	6	7,0	2
7	D. C.	—	—	8,1 m	—	4,5	—

Some of the above tests were made without checks and some without duplicates and are therefore subject to slight though probably insignificant error.

Experiment 230. These were all in duplicate and with Checks.

No.	Soil	N E	Rank	N I P in soil	Rank	N I P in solution	Rank
1	Filter No. 9	37,6	7	49,6	2	12,9	1
2	New Jersey, H.	38,3	6	0,00	5	0,00	6
3	Michigan	90,31	1	8,45	1	9,79	2
4	Wisconsin	67,34	3	4,56	3	1,62	3
5	New Jersey Red Shale	62,33	5	trace	4	trace	5
6	Geneva	65,78	4	0,00	6	1,62	3
7	Georgia No. 1	80,82	2	—		0	6

All duplicates agreed well.

It is seen in the above summaries that not only does the ordinary solution test fail to give the true rank of the soils in nitrifying power (seen most clearly in the case of the Georgia soil) but that the soil test also fails to do so indicating clearly that N. C. plays an important part in determining the N. E. and that all that can be had by a soil or a solution test is merely an indication of the bacterial conditions, not a true measure of nitrifying power of the soil in its natural condition.

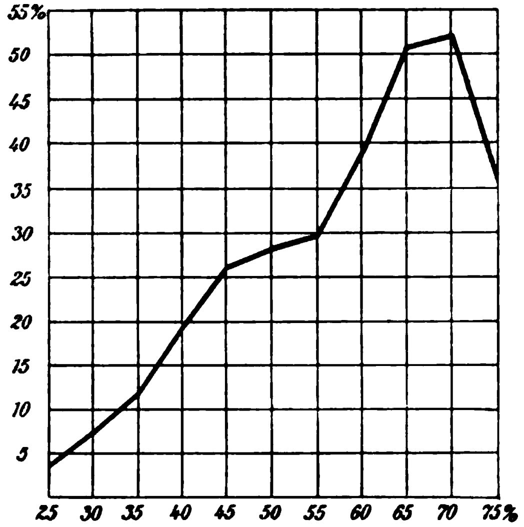
Methods for standard analysis.

In the light of these preliminary experiments and of results previously reported, we have formulated the following rules for determining the N. E. N. I. P. and N. C. of soils. The results of some hundreds of determinations by these methods we shall present either in this journal or in the annual report of the North Carolina Agricultural Experiment Station at a later date.

To determine N. E. of soils.

Screen the soil to be tested through a wire sieve ,of 3—4 mm mesh, (opening), to remove stones, sticks and coarser matter and to make the soil of good condition to manipulate, then determine its saturation capacity.

To do this fifty grams of soil present saturation of which is known are placed on a porcelain plate in a carbon filter and a measured quantity of water is added, a little more than necessary to saturate the soil, and the effluent is poured upon the soil and allowed to drain through again. This operation is repeated twice to insure complete saturation. The amount of water taken up by the soil is determined by measuring the final effluent and subtracting from the measured quantity orginally employed. Allowance is made for water already in the soil. Weigh live soil equal to 400 g. of dry soil[1]) into a 500 cc. Erlenmeyer flask; add 240 mgs. of nitrogen as sterilized ammonium sulphate solution, with proper precaution against the introduction of germs extraneous to the soil (i. e. using sterile sieves, containers, ladels, washing the hands with nearly surgical care, etc.); add sterile water sufficient, together with that already in the soil, to make it closely approximate two thirds saturation; plug loosely with cotton; incubate at 30 to 35 degrees for 4 weeks.

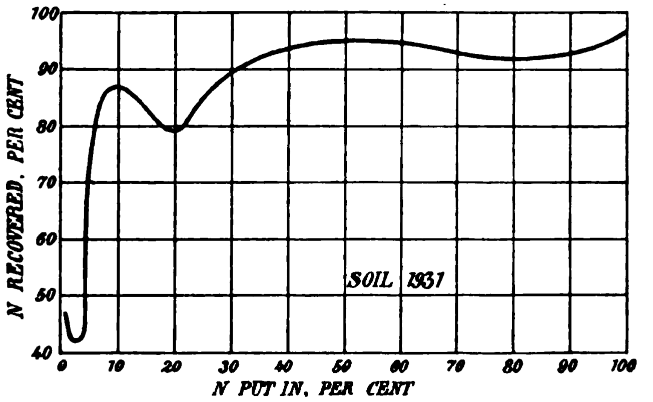


Curve 1.

Curve of nitrification at different degree of soil saturation. 1 cm on the ordinate=5% of initial nitrogen converted into nitrite or nitrate nitrogen. 1 cm on the abscissa=5% of saturation.

Set up in duplicate and with two control flasks, i. e. 400 g. of the same soil in the same conditions but without added nitrogen. Make up water loss weekly in all flasks. Determine the amount of nitrite and nitrate present in each flask at the end of the incubation period and report in terms of the element nitrogen[2]).

Subtract the average of the nitrite and nitrate nitrogen found in the two control flasks to give the net nitrite and nitrate nitrogen produced by organisms in the soil in question.



Curve 2.

Express the N. E. as a coefficient equal to the per cent of the original 240 mgs. of added nitrogen that is represented by the net nitrite and nitrate nitrogen found.

When determining the N. E. for soils normally saturated or immersed test the soils saturated instead of 2/3 saturated.

Discussion of N. E. method.

To strictly reflect field conditions, humidity should be that of the field. Field conditions are however so variable and such nitrification as does occur takes place mainly at moisture nearly the optimum. We therefore adopt 2/3 saturation as a standard condition for normally drained agricultural soils and of course a condition of complete saturation for all soils that are normally saturated. Since soils vary in their optimum moisture relation, it would be still better to use the optimum for each separate soil studied. This is however manifestly impossible except in case of exhaustive research upon special soils.

---

[1]) Dried two hours at 110.

[2]) Stevens and Withers, Studies in soil bacteriology. I. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909. p. 355.)

The temperature suggested is near the optimum for most nitrifying bacterial complexes and is adopted for substantially the reasons leading to the adoption of the optimum saturation.

The time, 4 weeks, nearly one-third of a crop growing season, is ample to give easily measured results in cases of soils in good nitrifying condition. Very poor nitrifiers would give different records with longer time; but this would retard work greatly, probably without effecting conclusions materially.

Aeration is probably better in these test conditions than in the field but probably not so different as to materially effect results. (See experiment 76.)

That some nitrate is formed in the soils that is not recovered in analysis is certain. This is the chief objection to the use of soils as a medium, but in view of the complete inadequacy of solutions as a medium, there is no escape from the dilemma, and soils must be used.

Table 10.

Experiment 315. To determine the power of water to extract added nitrates from the soil. For this purpose three samples of soil were taken, viz.: No. 1931, a sandy loam, No. 3553, a red clay, and No. 3705, a soil rich in organic matter which had been used for horticultural pot experiments. These soils yielded to water respectively 2.38, 0.92, and 3.72 milligrams nitrogen per 400 grams of soil. Separate portions of 400 grams of soil were taken, sodium nitrate was added in amounts which corresponded to various percentages of 240 milligrams nitrogen. The samples were shaken two hours with the usual amount of water and nitrates were determined in the water extracts. These amounts are expressed as follows. Deductions were made of the amounts extracted from the natural soils.

Deter,	Nitrogen added percentage of 240 milligrams	Percentage of nitrogen recovered from soil number:		
		1931	3553	3705
1	1,00	41,66	44,16	40,8
2	1,00	53,10	44,16	40,8
aver	1,00	47,38	44,16	40,8
1	3,00	41,66	42,20	40,00
2	3,00	41,66	42,20	40,00
aver	3,00	41,66	42,20	40,00
1	5,00	69,09	47,33	68,00
2	5,00	69,09	47,33	68,00
aver	5,00	69,09	47,33	68,00
1	10,00	87,70	47,00	87,70
2	10,00	84,50	47,00	81,40
aver	10,00	86,60	47,00	84,55

Deter,	Nitrogen added percentage of 240 milligrams	Percentage of nitrogen recovered from soil number: 1931	3553	3705
1	15,00	83,45	54,21	91,93
2	15,00	83,45	55,52	91,93
aver	15,00	83,45	54,87	91,93
1	20,00	79,85	62,65	93,95
2	20,00	78,30	64,20	93,95
aver	20,00	79,08	63,38	93,95
1	25,00	85,20	65,56	84,44
2	25,00	83,92	62,64	83,92
aver	25,00	84,56	64,10	84,18
1	50,00	96,46	68,90	90,20
2	50,00	93,96	70,16	89,58
aver	50,00	95,21	69,53	89,39
1	75,00	92,47	83,92	92,88
2	75,00	91,63	83,10	93,29
aver	75,00	92,05	83,51	93,09
1	100,00	97,09	85,19	95,21
2	100,00	97,40	84,56	94,59
aver	100,00	97,25	84,88	94,90

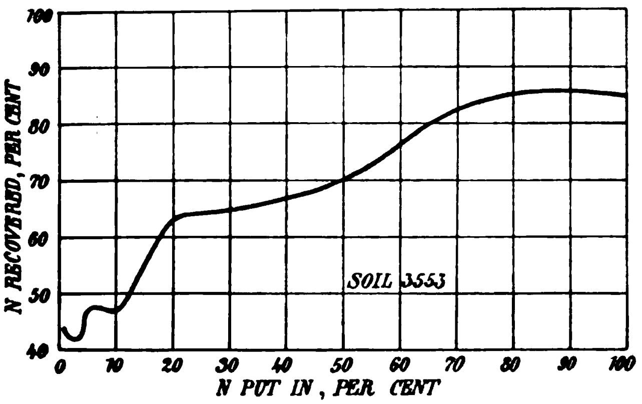
These tables show the recovery of only about 40 percent nitrates when small quantities were added and more than twice this amount when large quantities were added. These results show that figures given elsewhere in this paper are not absolute, but as the percentage recovered increases fairly regularly, the incomplete recovery does not interfere with the conclusions which have been drawn.

These facts are represented graphically in the following diagrams which were drawn by L. L. Vaughan.

To determine N. I. P. of soils.

Make a bacterial suspension from the soil to be tested taking 100 g of soil to 200 g of sterile distilled water, shaking three minutes, sedementing for five minutes, using the supernatent fluid. All work to be done aseptically. As a medium use the equivalent of 400 g of dry standard soil, sterilized, by autoclaving $^2/_3$ saturated, with 240 mgs of nitrogen added as ammonium sulphate. After inoculation with 75 cc. of the bacterial suspension from the soil to be tested, culture in Erlenmeyer flasks as for the determination of N. E.

Do in duplicate and determine the nitrite and nitrate nitrogen present at end of 4 weeks. From the average of the two flasks subtract nitrite and nitrate nitrogen equal to that in the culture at the beginning, if any, to secure the net nitrite and nitrate nitrogen produced.

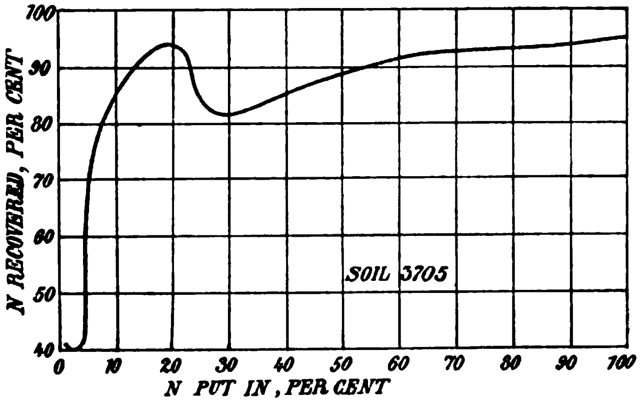


Curve 3.

Express N. I. P. as a coefficient equal to the per cent of original nitrogen changed to nitrite and nitrate nitrogen under these standard conditions in standard time. When determining N. I. P. for soils normally staurated, use saturated cultures.

Discussion of N. I. P. method.

An artificial soil of high N. C., which might be universally standard, is desired, but our attempts to construct such an artifical medium have failed utterly.



Curve 4.

We recognize that with the use of a different standard soil somewhat different results would be had but are conviced that the results had by the method here outlined approaches the truth more nearly than earlier methods advocated and employed and give a near approximation to the truth. No one medium can reveal the whole truth.

The standard used by us is our soil No. 1931 which may be described as follows.

Table 11.

Standard soil No. 1931.

Classification, Cecil Sandy loam[1]).

Gravel over 2 mm diameter 2.72 percent.

Mechanical analysis of the fine particles shows the following:

	Diameter mm	Percent	
1)	2,000—1,000	3,74	Fine gravel
2)	1,000—0,500	9,91	Coarse sand
3)	0,500—0,250	9,42	Medium sand
4)	0,250—0,100	32,55	Fine sand
5)	0,100—0,050	13,52	Very fine sand
6)	0,050—0,005	22,07	Silt
7)	0,005—0	8,84	Clay
	Total	100,05	

A chemical analysis showed the soil to contain:

Moisture	7,03 percent
Humus	2,61 „
Nitrogen total	0,082 „
Nitrogen as nitrates	0,0006 „
Alkalinity in terms of $CaCO_3$	0,0074 „
Phosphoric acid	Faint trace.

---

[1]) The classification and mechanical analysis were by G. M. MacNider, Assistant Chemist N. C. Department of Agriculture.

To determine N. C. of soils.

The soil to be tested shall be prepared as for the determination of N. E., then sterilized, inoculated and subsequently treated as for the determination of the N. I. P.; using the same inoculum at the same time in parallel cultures in standard soil. All cultures to be done in duplicate with controls.

The N. C. is expressed as a coefficient equal to the coefficient obtained by the soil to be tested divided by the coefficient obtained by the standard soil.

If it were possible to maintain a standard inoculum, the N. C. could be directly determined but means of maintaining such an inoculum have not yet been devised.

We recognize here that the use of a different inoculum would lead to somewhat different results and that tests with no one inoculum can reveal the whole truth.

Standard method regarding ammonification.

For the same reason set forth regarding nitrification, we believe that the ends of soil bacteriology will be furthered by the adoption of similar indices regarding the soil factor of ammonification. We therefore propose the terms Ammonifying Efficiency (A. E.), Ammonifying Inoculating Power (A. I. P.) and Ammonifying Capacity (A. C.) to be determined in the following ways.

To determine A. E.

The sample to be prepared and tested as for N. E. with the exception that 200 g of soil be used and that nitrogen 120 mgs be added as cottonseed meal instead of as ammonium sulphate; incubation to be for 7 days; analysis to be for ammonia[1]).

To determine A. I. P.

The sample to be prepared and tested as for N. I. P., except that nitrogen be added as cottonseed meal medium 200 g, inoculum 25 cc and that incubation be for 7 days and analyses for ammonia.

To determine A. C.

The sample to be prepared and tested as for N. C. medium 200 g the inoculum to be 1 cc of a pure culture of B. Subtilis 24 hours old in standard beef bouillon at incubator temperature, which culture was inoculated with one oese from another culture. This inoculum to be frequently standardized against standard soil and corrections made for any change from its original ammonifying power.

For conveniênce in handling such determinations the following form is used.

---

[1]) For methods see **Stevens** and **Withers**, Studies in soil bacteriology. II. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909. p. 776).

ASSIGNMENT No......... SET UP............. ANALYZED.............

SOURCE OF SOIL......... KIND......... QUALITY......... COLLECTOR.........

	CHEMIST'S No.	TOTAL WATER	SERIES No.	TO DETERMINE THE N. E., N. I. P., N. C. AND A. E. OF SOIL No.................	NITRITE NITROGEN	NITRATE NITROGEN	NITRITE AND NITRATE NITROGEN	INDICES
N. E.			1.	400 g. of live soil + 240 mgs. of nitrogen as ammonium sulphate				
			2.	400 g. of live soil + 240 mgs. of nitrogen as ammonium sulphate				
				Average				
			3.	Same as No. 1 for control, no added nitrogen				
			4.	Same as No. 1 for control, no added nitrogen				
				Average of controls				
				Net = N. E. =........................				
N. I. P. IN SOIL			5.	400 g. sterile standard soil + 240 mgs. of nitrogen as ammonium sulphate + 75 cc. of soil susp.				
			6.	400 g. sterile standard soil + 240 mgs. of nitrogen as ammonium sulphate + 75 cc. of soil susp.				
				Average				
				Control (.........)....................				
				Net = N. I. P. in soil = ...				
N. I. P. IN SOLU			7.	377,12 cc. of Omeliansky's Ammonia solution + 10 cc. of soil susp. ....8.				
			8.	377,12 cc. of Omeliansky's Ammonia solution + 10 cc. of soil susp...				
				Average				
				Control................................				
				Net = N. I. P. in solution =............				
N. C.			9.	400 g. sterile soil + 240 mgs. of nitrogen as ammonium sulphate + 75 cc. of standard inoculum.				
			10.	400 g. sterile soil + 240 mgs. of nitrogen as ammonium sulphate + 75 cc. of standard inoculum.				
				Average				
				Control (= average of Nos. 3 and 4)				
				(a) Net				
			11.	400 g. of sterile stand. soil + 240 mgs. nitrogen as ammonium sulph. + 75 cc. stand. inoculum.				
			12.	400 g. of sterile stand. soil + 240 mgs. nitrogen as ammonium sulph. + 75 cc. stand. inoculum.				
				Average				
				Control................................				
				(b) Net				
				Ratio of a to b = N. C. = ...				

	CHEMIST'S No.	TOTAL WATER	SERIES No.	TO DETERMINE THE N. E., N. I. P., N. C. AND A. E. OF SOIL No.................	NITRITE NITROGEN	NITRATE NITROGEN	NITRITE AND NITRATE NITROGEN	INDICES
A. E.			13.	200 g. live soil + 120 mgs. of nitrogen as cotton-seed meal......................	AMMONIA[1] NITROGEN			
			14.	200 g. live soil + 120 mgs. of nitrogen as cotton-seed meal.....................				
				Average				
			15.	Duplicate of No. 13, no added nitrogen ...				
			16.	Duplicate of No. 13, no added nitrogen....				
				Average................................				
				Net = A. E. = ...				
A. I. P. IN SOIL			17.	200 grams of standard soil + 120 mgs. of nitrogen as cotton-seed meal sterilized, + 25 cc. of suspension.				
			18.	200 grams of standard soil + 120 mgs. of nitrogen as cotton-seed meal sterilized, + 25 cc. of suspension.				
				Average................................				
				Control = (.......).....................				
				Net = A. I. P. in soil =................				
A. I. P. IN SOLU			19.	200 cc. of water + 120 mgs. of nitrogen as cotton-seed meal sterilized, + 5 cc. of of suspension.				
			20.	200 cc. of water + 120 mgs. of nitrogen as cotton-seed meal sterilized, + 5 cc. of suspension.				
				Average................................				
				Control = (........)				
				Net = A. I. P. in solution =............				
COLONY COUNT.					PER GRAM OF DRY SOIL.			

Nachdruck verboten.

Oedocephalum glomerulosum Harz, Nebenfruchtform zu Pyronema omphalodes (Bull.) Fckl.

[Aus der Abteilung für Pflanzenkrankheiten des Kaiser Wilhelm-Instituts zu Bromberg.]

Von **Ernst Willy Schmidt.**

I.

Auf Wattebäuschen, die zur Befestigung junger Rübenpflänzchen in den Einsatzröhren von Wasserkulturgefäßen dienten, traten spontan die zierlichen rötlichen Rasen eines „Schimmelpilzes", Oedocephalum glomerulosum Harz, in großer Anzahl auf. In einigen Wochen war die Oberfläche der Watte dicht überzogen von dem Pilze, der auch in den Wassereinfüllrohren vegetierte und das hypokotyle Glied der jungen Rübenpflänzchen mit weitmaschigem Hyphengeflecht umspann, ohne jedoch irgendwie parasitären Charakter anzunehmen. Nach Verlauf zweier weiterer Wochen war die Konidienfruktifikation ziemlich erschöpft, nur noch wenige mißfarbene filzige Mycelmassen hafteten an der Watte, die mit der Zeit durch Bakterien und Amöben — eine Limaxform trat in Unmenge auf — zu einer schmutzigbraunen gallertigen Masse geworden war. Alsbald tauchten nach und nach auf der Watte winzige rote Pünktchen auf, die in kurzer Zeit zu etwa Stecknadelkopfgröße heranwuchsen. Es waren die Apothecien von Pyronema omphalodes (Bull.) Fckl. (syn. Pyr. confluens)[1]). — Einige Apothecien wurden von der Watte auf Fließpapier übertragen, das mit Knopscher Nährlösung getränkt war. Hier entstanden dann auch mit der Zeit nach einem vorübergehenden Oedocephalumflor schöne Apothecien von leuchtend roter Farbe[2]). Zuerst kugelig, später mehr abgeplattet linsenförmig, wobei das leuchtende Rot mehr und mehr in ein verwaschenes Rosa spielt, fließen häufig mehrere Apothecien zu einem unregelmäßigen voluminösen Lager zusammen. Während in meinen Kulturen die Apothecien mit zunehmendem Alter heller wurden, führt Kosaroff[3]) im Gegensatze dazu an, daß der Fruchtkörper mit zunehmender Reife dunkler wird, welcher Unterschied aber leicht mit der außerordentlichen habituellen Variabilität der Pyronema omphalodes erklärt ist. — Im übrigen stimmt der Pilz in allen Eigenschaften mit der von Rehm[4]) gegebenen Diagnose überein. Nur fällt mir die Anmerkung auf, daß Rehm die Jodpositivität „niemals fand“, während nach Schröters[5]) Angabe die Schläuche „meist blau werden“. Auch meine Exemplare erwiesen sich durchweg als jodpositiv.

---

[1] **Correction must be here made for any ammonia nitrogen ceverted to nitrite or nitrate nitrogen if any during the test.**

Da nach und nach auf sämtlichen Wattebäuschen, auf denen Oedocephalum gewachsen war, nach deren „Abblühen“ die Pyronemaapothecien auftraten, so lag die Vermutung nahe, diese höhere Fruchtform stehe mit dem Oedocephalum als Konidienform in einer genetischen Beziehung. Um so mehr, als noch verschiedene weitere Beobachtungen auf diesen Zusammenhang hinwiesen. Das Auftreten der Apothecien nach Oedocephalum auf Fließpapier wurde schon genannt. Dann entstanden an der Unterseite der Glasdeckel großer Petrischalen, in denen auf Sägespänen Apothecien sich gebildet hatten, hie und da Konidienfruchtstände. Musterte man daraufhin den Deckel unter dem Mikroskope durch, so fanden sich eine Menge gekeimter und ungekeimter Ascosporen vor, die durch Ejakulation unter den Deckel geschleudert waren, hier war alsdann ein Mycel entstanden, dem hin und wieder ein Konidienträger zu entspringen schien. Auch auf dem hypokotylen Gliede mehrerer abgestorbener Rübenpflänzchen, noch halb verdeckt von den Konidienträgern des Oedocephalum, zeigten sich junge glutrote Apothecienanlagen unserer Pyronema.

---

[1]) Herr Prof. P. Magnus, Berlin, war so liebenswürdig die Speziesdiagnose der Pyronema vorzunehmen, während Herr Prof. Lindau, Berlin, das Oedocephalum als glomerulosum diagnostizierte. Beiden Herren für ihre liebenswürdige Auskunft meinen verbindlichsten Dank!

[2]) Die Bezeichnung „Glutpilz“, die Carus anwandte bei der anmutigen Schilderung des Auftretens dieses Pilzes an einem verlassenen Kohlenmeiler bei Marienbad scheint besonders treffend. (Nov. act. Leop. T. 17. 1. 1834. p. 369.)

[3]) Kosaroff, P., Beitrag zur Biologie von Pyronema confluens Tul. (Arb. aus d. Kaiserl. Biol. Anst. f. Land- u. Forstw. Bd. 5. 1907. p. 126.)

Idem, Recherches sur la biologie du champignon Pyronema confluens Tul., en même temps une contribution à la question de l'action de la stérilisation, sur la composition et les qualités du sol. (Traveaux de la Stat. agron. de l'état près de Roustchouk (Bulgarie). T. 1. 1908. p. 88.) [Text bulgarisch.]

[4]) Rehm, Discomyceten. (Rabenhorsts Kryptogamenfl. 2. Aufl. Bd. 1. 1896. Abt. 3. p. 965.)

[5]) Schröter, Kryptogamenflora von Schlesien. Bd. 3. 1908. 2. Hälfte. p. 33.

II.

Nun liegen aber gerade über Pyronema omphalodes eine Menge Literaturangaben vor, die von einer Zugehörigkeit irgend einer Konidienform zu dieser Pezizacee entweder nichts erwähnen, oder aber eine solche Möglichkeit mehr oder weniger bestimmt verneinen. Zwar gibt Tulasnes[1]) Künstlerstift einen Oidienzustand mycelialer Bestandteile der Pyronema omphalodes wieder, bezieht jedoch diese Angabe später auf Pyronema melaloma Fr.[2]) Auch de Bary[3]) erwähnt kurz, daß er keine Konidien beobachten konnte.

Dagegen will van Tieghem[4]) bei Pyronema omphalodes nicht allein Oidien, sondern außerdem noch Konidien gefunden haben, sowohl an verzweigten, aufrechten, steifen Mycelfäden, welche sich zu kleinen weißen Scheiben vereinigen, als auch an den Paraphysen selbst.

Brefeld[5]), der verschiedene Pezizeen kultivierte, ließ die durch Ejakulation gewonnenen Sporen der Pyronema omphalodes keimen, die dann einem „dickfädigen lockeren weißen Mycel Ursprung gaben, das über den Objektträger und über das Gestell, worauf sie lagen, hinaus sich verbreitete. Während sechs bis sieben Wochen wurden aber trotz aufmerksamster kontinuierlicher Beobachtung irgend welche Konidien oder Oidien nicht gesehen, auch dann nicht, wenn die Kulturen in Wasser oder sehr verdünnter Nährlösung gemacht wurden“. Auch in Kosaroffs[6]) Kulturen trat auffälligerweise Oedocephalum nicht auf, obwohl Verf. ausdrücklich erwähnt, „daß der Pilz auf feuchter sterilisierter Watte gut gedeiht und zwar besser auf entfetteter als auf unentfetteter“, also auf dem Substrat, auf dem bei mir die Konidien von Oedocephalum vor und neben den Apothecien der Pyronema aufgetreten sind. — Interessant ist nun, daß Brefeld als „Ausnahme von dieser allgemeinen Sterilität“ der Pezizeen Peziza vesiculosa (Bull.) hinstellt, bei der er eine Konidienform feststellt und abbildet[7]), die ohne Zweifel als ein Oedocephalum auzusprechen ist. Schröter[8]) zieht denn auch Oedocephalum fimetarium (Rieß)[9]) zu Peziza vesiculosa. So auch

---

[1]) Tulasne, Fungorum carpologia. T. 3. 1865. p. 197. tab. XVII.

[2]) Tulasne, Phenomènes de copulation dans les champignons. (Ann. sc. nat. 5. Série T. 6. 1866. p. 216.)

[3]) de Bary, A., Über die Fruchtentwicklung der Ascomyceten. Leipzig 1863. p. 15.

[4]) Bull. soc. bot. de France. T. 31. 1884. p. 355; zitiert nach Brefeld, l. c., p. 332, da mir diese Arbeit leider im Originale nicht zugänglich war.

[5]) Brefeld, Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Heft 10. 1891. p. 332. 333.

[6]) Kosaroff, l. c. p. 315.

[7]) Brefeld, l. c. Taf. XIII. Fig. 19, 20.

[8]) Schröter, in Engler-Prantl. Natürl. Pflanzf. T. 1. Abt. I. Pezizineae. p. 185.

[9]) Fresenius, Beiträge zur Mykologie. 1850. p. 105.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Rehm[1]). Nach Brefeld[2]) „keimten die Konidien selbst niemals aus, sondern starben nach einiger Zeit ab". Die gleichen Konidienträger erhielt Brefeld von Peziza cerea (Sow.), jedoch „auch von diesen spontan gewachsenen Konidienträgern waren die Sporen nicht zum Keimen zu bringen". Hier dürfte übrigens schon das Vorkommen der gleichen Konidienform die immer noch durchgeführte Abtrennung der var. cerea von vesiculosa unnötig machen.

III.

Um die Zusammengehörigkeit von Oedocephalum glomerulosum und Pyronema omphalodes experimentell einwandsfrei zu beweisen, mußte versucht werden, aus einer einzigen isolierten Ascospore in absoluter Reinkultur Mycel zu erzielen, um zu ersehen, ob im Laufe der Vegetation aus diesem Mycel die charakteristischen Oedocephalum konidienträger entstanden. Brefeld erhielt nur zufällig einmal reine Kulturen von seiner Peziza vesiculosa, da durch den Ejakulationsprozeß die Ascosporen mit Bakterien behaftet in das Substrat gelangen. Brefeld[3]) selbst sagt hierüber: „Bei Kulturen in Nährlösungen kommen auch größere Mycelien zustande, die aber häufigen Störungen ausgesetzt sind. Es hängt dieses damit zusammen, daß in den großen Fruchtkörpern der Peziza sich Feuchtigkeit ansammelt und dann auf ihrem Hymenium eine Vegetation von Bakterien entsteht. Die ejakulierten Sporen reißen solche mit und daher gelingt es nur selten und zufällig, bakterienfreie Kulturen zu haben." Dieselben Schwierigkeiten lagen auch bei Pyronema vor: Die durch Ejakulation gewonnenen Sporen waren stets mit Bakterien stark verunreinigt; ihre direkte Verwendung zu Hängetropfenkulturen war nicht möglich, da die Keimschläuche bald von Bakterien umhüllt waren, so daß das weitere Wachstum verhindert wurde, und auch eine genaue Beobachtung unmöglich wurde. Um zu einer Reinkultur zu gelangen, wurde deshalb die in der Bakteriologie mit so großem Erfolge durchgeführte Verdünnungsmethode benutzt. Auf vorher sterilisierten Objektträgern kam ein steriler Glasring; auf den Boden der so gebildeten feuchten Kammer wurde aus der Filtrierpapierrohkultur der Pyronema ein reifes Apothecium gebracht, und dann schnell ein flambiertes Deckgläschen auf den Glasring gefügt. Das ganze wurde unter einer flambierten großen Glocke vorgenommen, die einer gleichfalls mit der Flamme sterilisierten Glasplatte dicht aufpaßte. Nach wenigen Minuten war das Deckglas mit einer genügenden Menge Sporen bedeckt. Von der Energie der Ejakulation kann man sich leicht überzeugen, wenn man die eben beschriebene feuchte Kammer, die ca. 5 mm hoch ist, unter das Mikroskop bringt und bei schwacher Vergrößerung (etwa 90 f.) auf die Unterseite des Deckglases einstellt. Man kann dann beobachten, wie die Ascosporen mit ziemlicher Gewalt an das Deckgläschen geschleudert werden. Obwohl hier eine simultane Ejakulation vorliegt, hafteten in der Regel nur 3—5 Sporen, umgeben von einem kleinen „Hofe", der Gallerthülle, an dem Glase; es ist anzunehmen, daß während des Fluges sich die 8 Sporen von einander trennen, was ja auch die Verbreitung am besten sichert. — Nachdem nunmehr das Deckgläschen genügend mit Ascosporen bedeckt war, wurde es in ca. 10 ccm sterile Nährlösung (H_2O + 10 Proz. Knopsche Lösung + 1 Proz. Pepton + 2 Proz. Traubenzucker) in einem weiten Reagenzglase zertrümmert und gut geschüttelt, da die Sporen außerordentlich fest am Glase haften. Dieses Röhrchen bildete sodann das Ausgangsmaterial für die weiteren Verdünnungen, indem in 10 ccm-haltige Nährgelatineröhrchen (H_2O + 15 Proz. Gelatine + 10 Proz. Knop + 1 Proz. Pepton + 2 Proz. Traubenzucker), die bei 30° C in flüssigem Zustande gehalten wurden, je eine Platinöse der mit Ascosporen beschickten Nährlösung gebracht wurde. Die Röhrchen wurden schließlich in sterile Petrischalen ausgegossen. Auf diese Weise gelang es, Platten mit nur einer einzigen Ascospore zu beschicken. Es ist allerdings notwendig, eine große Anzahl von Platten zu gießen, da immer noch trotz der großen Verdünnung in einer Anzahl Platten sich Bakterienkolonien aus mitisolierten Keimen entwickeln, die anfangs nicht stören, jedoch bei längerer Kultur durch Verflüssigung des Substrates usw. lästig werden. Ich modifizierte daher die Gewinnung der Ascosporen, indem ich nicht von ejakulierten Sporen ausging, sondern von Sporen, die ich mit einer sterilen feinen Glasnadel aus dem Schlauchlager herausholte, und zwar in der Art, daß zuvor das Apothecium quer mit alkoholsterilisiertem Rasiermesser durchschnitten wurde und dann unter dem Binocular in die halbdurchschnittenen Asci die sterile Glasnadel eingeführt und im Reagenzrohre abgebrochen wurde, um so zu einem nunmehr völlig bakterienfreien Ausgangsmaterial für die weiteren Kulturen zu gelangen.

---

[1]) **Rehm in Rabenhorsts** Kryptog., l. c. p. 1018.

[2]) **Brefeld**, l. c.

[3]) **Brefeld**, l. c. p. 334.

IV.

Aus den auf diese Weise isolierten Ascis wuchsen auf den Gelatineplatten schon nach kurzer Zeit kräftige Mycelien hervor. Das Mycel ist auffallend locker und gestattet daher, die Spore als Ausgangspunkt bei der mikroskopischen Beobachtung stets im Auge zu behalten. Im allgemeinen keimt die Ascospore mit zwei Keimschläuchen, die sich bald gabeln, woraus dann das ganze weitere radiär angeordnete Mycelium hervorgeht. Die einzelnen Hyphen sind stark geschlängelt und viel verästelt. Im näheren Umkreise der Spore, also in den jüngsten Stadien des Mycel, sind die Hyphen kurzzellig, tonnenförmig, was auch in den Hängetropfen der Fall ist. Später werden die Hyphen mehr gestrecktzellig, vakuolisiert. Schon nach 48 Stunden entstanden in einigen Platten an den Rändern eines ca. 1,5 cm im Durchmesser haltenden Myceles die zierlichen Köpfchen der Oedocephalumkonidienform, die sich überall in der für Oedocephalum charakteristischen Weise aus den Hyphen vom Substrat ab senkrecht in die Luft erhoben. Auch in den gleichzeitig angelegten Hängetropfenkulturen, wo das Wachstum, wohl infolge Luftmangels, ein viel langsameres war, waren Konidienträger entstanden. Somit war der Beweis erbracht, daß Oedocephalum glomerulosum Harz die Konidienform bildet zu Pyronema omphalodes (Bull.) Fckl. Die aus den Ascosporen erzogenen Konidiensporen keimten normal aus und gaben einem feinhyphigen Mycel Ursprung, das als identisch mit dem myceIialen Habitus des aus den Sporen des spontan aufgetretenen Oedocephalum glomerulosum hervorgegangenen Hyphengewebes anzusehen ist. Auch hier entstanden nach kurzer Zeit wieder die typischen Konidien.

V.

Der unter dem Namen Haplotrichum glomerulosum Harz von Harz[1]) beschriebene und gut abgebildete „Fungus im-

---

[1]) **Harz, C. O., Einige neue Hyphomyceten Berlins und Wiens nebst Beiträgen zur Systematik derselben. (Bull. de la Soc. imp. des Natur. de Moscou. T. 44. 1888. p. 71.)**

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

perfectus" ist von Lindau[1]) zu Oedocephalum gezogen und als Oedocephalum glomerulosum Bull. aufgeführt. Da die bei Harz gegebenen Details über die allgemeinen morphologischen Verhältnisse das Wichtigste bringen, so seien hier nur noch einige physiologische Daten gegeben. Oedocephalum glomerulosum wächst verschiedenfarbig und zwar auf Filtrierpapier, Watte, Glas usw. blaßrot, manchmal ins weißliche spielend, auf gelatinösen Medien dagegen treten eigenartige Verfärbungen auf. So auf den von mir im allgemeinen angewendeten Pepton-Zuckergelatineböden. Zuerst entstanden die gewöhnlichen rötlichen Konidien, in den weiteren Wachstumszonen jedoch grün bis graue, die schließlich in einem gelbweißen Außenrand verliefen. Auf den entsprechenden Agarböden wuchs der Pilz stets schlechter, bildete ein meist spinnewebenartig über das Substrat hinkriechendes Mycel mit vielfach weißen Konidienköpfchen. Auf Weizenbrot wuchs der Pilz schneeweiß, bildete erst sehr spät Konidien, meist nur langes flaumiges steriles ca. 1 cm in die Luft ragendes Hyphengeflecht. Gelatine wurde in älteren Kulturen vom Zentrum aus verflüssigt, da diese Hyphen das charakteristische Aussehen abgestorbenen Mycels zeigten, so dürften hier nur proteolytische Endoenzyme in Frage kommen. In Reagenzrohrkulturen auf Peptonzuckergelatine diffundierte bei älteren Kulturen aus der derben Myceldecke ein Farbstoff, der die Gelatine bis auf den Boden des Röhrchens intensiv weinrot tingierte, zugleich wurde die Gelatine verflüssigt. Mit 96proz. Alkohol extrahiert und von den gefällten Eiweißsubstanzen durch Filtration getrennt, zeigte der in Alkohol lösliche Farbstoff eine bei durchfallendem Lichte blaßrote, bei auffallendem Lichte tief weinrote Farbe. Der alkoholische Auszug wurde fast bis zur Trockne eingedampft und der rotbraune, stark klebrige Rückstand mit verdünnter Lauge aufgenommen, und mit einem Überschuß verdünnter Salzsäure versehen; die Lösung wurde nunmehr gelb, bei Zusatz von Lauge bis zur Neutralisation trat die ursprüngliche Färbung, weinrot, wieder auf, der Farbstoff zeigte also den Charakter eines Indikators. Ob der Farbstoff lipochromatischer Natur oder dem von Bachmann[2]) Xylerythrinsäure genannten Pigment der Peziza sanguinea Pers. zuzurechnen ist, war bei dem mir zur Verfügung stehenden geringen Material nicht festzustellen. — Die Keimung der Konidiensporen ging in allen Medien vor sich, wurde aber oftmals in Hängetropfenkulturen nach kurzer Zeit sistiert, während auf den Gelatineplatten in wenigen Tagen ein kräftig wachsendes dichtes Mycel ringförmig konidienanlegend entstanden war. Der Pilz ist sehr sauerstoffbedürftig, wie schon aus dem schlechten Gedeihen in den mit Vaseline abgedichteten feuchten Kammern zu ersehen ist. In Reagenzrohrrollkulturen in Wasserstoffatmosphäre keimte zwar der Pilz, doch war seine Entwicklung im Verhältnis zu den der Luft ausgesetzten Kontrollkulturen eine minimale zu nennen. Gelatinestichkulturen zeigten demnach nur an der Oberfläche des Stichkanals ein Wachstum, das Mycel war in einem feinen Striche dem Stichkanal entlang aufwärts gewachsen, um sich auf der Oberfläche der Gelatine üppig zu entwickeln.

---

[1]) Lindau. (Rabenhorsts Kryptogfl. Bd. 1. Abt. 8. Fungi imperfecti, Hyphomycetes. 1907. p. 93.)

[2]) Bachmann, Programm des Gymnasiums zu Plauen 1866. p. 15; zitiert nach Zellner, Chemie der höheren Pilze. Leipzig 1907. p. 160.

Nachdruck verboten.

Die Blüteninfektion beim Weizenflugbrand.

[Mitteilung aus der Kgl. Württemberg. Anstalt für Pflanzenschutz in Hohenheim.]

Von Dr. **Wilhelm Lang.**

Mit einer Doppeltafel und 2 Figuren im Text.

Die Untersuchungen von Brefeld (5) und Hecke (11) haben uns mit der fast einzig dastehenden Thatsache bekannt gemacht, daß ein parasitischer Pilz imstande ist, im Samen der Wirtspflanze — ohne irgendwelchen Nachteil für diesen — die Winterruhe mitzumachen, um erst im nächsten Jahre die Fruchtanlagen der aus dem infizierten Samen hervorgegangenen Pflanze zu zerstören. Brefeld (2) hat schon Mitte der achtziger Jahre an seinen Sporenkulturen die Beobachtung gemacht, daß der Flugbrand bei Weizen und Gerste von einer anderen Ustilago-Art verursacht wird als beim Hafer; das Fehlen der Konidiensprossung wies darauf hin, daß die Biologie des Weizen- und Gerstenflugbrandes von der des Haferflugbrandes abweichen müsse. Die Ergebnisse der Brandinfektion beim Mais eröffneten dann neue Möglichkeiten in dem Sinne, daß nicht bloß der junge Keimling, sondern überhaupt die jugendlichen Pflanzenteile der Infektion zugänglich seien. Doch zeigte sich bald, daß die Verhältnisse, wie sie beim Mais vorliegen, nicht ohne weiteres auf die anderen Getreide übertragen werden können. Für diese blieben schließlich nur der junge Keimling und die Blüte als Infektionsstellen übrig. Beim Hafer hatte nur die Keimlingsinfektion Erfolg; bei Weizen und Gerste dagegen gelangen die Infektionen mit Ustilago tritici Jens. und Ustilago nuda Kellerm. et Sw. nur an der eben sich öffnenden Blüte. Die infizierten Fruchtknoten reiften normal, aber im folgenden Jahr wuchsen aus den Körnern brandige Pflanzen heran — trotz sorgfältiger Beizung der Samen. Daraus ergab sich mit großer Wahrscheinlichkeit, daß der Pilz in den Fruchtknoten eindringen und irgendwo im reifen Samenkorn in irgend einer Form überwintern mußte. Die von selbst sich aufdrängenden Fragen nach Ort und Zeit des Eindringens, nach Ort und Form des Überwinterns des eingedrungenen Pilzes blieben zunächst unbeantwortet.

Kurze Zeit nach dem Erscheinen der Brefeldschen Arbeit gelang es auch Hecke, nicht bloß brandige Pflanzen durch Blüteninfektion zu erzielen, sondern auch den Pilz in dem keimenden Korn nachzuweisen. Er hat zu seinen Versuchen Gerste gewählt und zwei Stadien der Keimung untersucht: Einmal 44 Stunden nach dem Einquellen, also ehe der Keimling die Fruchtwand gesprengt hatte, und dann noch einen älteren Zustand, wo der Blattkeim bereits eine Länge von 6 mm erreicht hatte. Beide Male fand er reichlich Pilzmycel, am meisten im Scutellum, aber auch in den übrigen Organen des Keimlings bis in der Nähe der Vegetationsspitze. Hecke hat vor und während der Keimung alle Vorsichtsmaßregeln zur Verhütung einer fremden Infektion getroffen; seine nachstehende Folgerung ist also durchaus berechtigt (l. c. p. 249): „Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß dieses Mycel, welches mit ziemlicher Sicherheit als Brandpilzmycel zu bezeichnen ist, von der Blüteninfektion herrührt, da es nur in infizierten Früchten zu finden war und eine nachträgliche Infektion bei der Keimung durch die fungicide Behandlung der entspelzten Körner vollständig ausgeschlossen ist; überdies ist der junge Keimling noch in der Fruchtschale eingeschlossen,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

so daß ein Eindringen von Keimschläuchen während der kurzen Zeit des Quellens und Keimens jedenfalls nicht möglich ist.“

Durch diese Untersuchungen ist also erwiesen, daß der Flugbrand bei Weizen und Gerste auf Blüteninfektion beruht; auch darf es als äußerst wahrscheinlich gelten, daß der eingedrungene Pilz als vegetatives Mycel im Korn überwintert. Die weiteren Fragen, die wir oben bereits angedeutet haben, harren noch der Lösung; sie sollen im folgenden so weit beantwortet werden, als unsere Beobachtungen zur Zeit reichen.

Bau der Sporen. Wir kennen die Sporen von Ustilago tritici als kleine, mehr oder weniger regelmäßig geformte Kügelchen, deren eine Hälfte braun gefärbt ist, während die andere Hälfte beinahe hyalin aussieht. Die Oberfläche erscheint mit winzigen Wärzchen regellos übersät; unter der dünnen Haut befindet sich plasmatischer Inhalt von gleichmäßig hyaliner Beschaffenheit. An der Sporenhaut können wir nach Behandlung mit chemischen Reagentien leicht zwei Schichten unterscheiden. Bringt man z. B. die Sporen in Essigsäure, die auch Eriksson mit Vorteil zur Unterscheidung der Schichten der Uredosporenwand verwendet hat, so erhält man, wenn die Säure längere Zeit eingewirkt hat, folgendes Bild (Fig. 1): Die äußere Schicht erscheint im optischen Durchschnitt als breites, ringsum gleichmäßiges Band; in den inneren Lagen ist sie tiefbraun und geht nach außen allmählich in lichtes braun über. Die Wärzchen zeigen sich jetzt als kleine dunkelbraune Zapfen, die in der dunklen Zone ihren Ursprung haben und nach außen sich etwas verjüngen; sie treten aber nie über den Rand der Wandung nach außen hervor. Vergleichen wir damit die Sporen, die zum Zweck der Paraffineinbettung und Färbung durch die verschiedenen Fixierungsflüssigkeiten gewandert sind, so finden wir — besonders deutlich an bereits gekeimtem Material — die äußere Schicht als feine, dunkle, scharfgezeichnete Linie ohne jegliche Erhabenheiten nach außen; häufig ist sie auch von der inneren Schicht stellenweise abgehoben. Da wir weiter auch an frischem Sporenmaterial im Wasser, selbst mit der stärksten Vergrößerung, die Wärzchen im optischen Durchschnitt nicht mit Sicherheit als vorspringende Höcker wahrnehmen können, so neigen wir zu der Ansicht, daß die Stellen, die man als Wärzchen bezeichnet, in erster Linie deshalb so scharf in die Erscheinung treten, weil sie eine dunklere Färbung besitzen. Damit stimmen auch Brefelds Beobachtungen überein, der den Sporen von Ustilago tritici eine „sehr schwach ausgeprägte Rauheit der Außenhaut“ zuschreibt, die bei der Abbildung ohne Übertreibung nicht einmal angedeutet werden kann (4, p. 126). Weitere Aufklärung über die Natur dieser Strukturverhältnisse dürfen wir von der Entstehungsgeschichte der Sporen erwarten.

Die innere Schicht der Sporenhaut erscheint bei Essigsäurebehandlung gegen die äußere scharf abgegrenzt als hellbraun gefärbtes Band von durchschnittlich halber Breite der letzteren. In gefärbten Präparaten (Fig. 3), welche die Dicke der Sporenwandung fast unverändert zeigen, ist die innere Schicht bedeutend stärker als die äußere; ihre Stärke wechselt aber je nach der Lage der Spore: Liegt diese so, daß die helle Hälfte voll nach oben oder nach unten gerichtet ist, so erscheint die innere Schicht ringsum gleich breit; zeigt dagegen die Spore die helle und dunkle Hälfte gleichzeitig dem Beschauer (Fig. 3), so sehen wir die Breite des Bandes von der dunklen zur hellen Hälfte allmählich abnehmen und am hellen Pol auf ein Minimum zusammenschrumpfen. Dies erklärt auf einfache Weise die verschiedene Färbung der Sporenhälften: Sie wechselt mit der Stärke der inneren Schicht.

Des Weiteren kann man an günstig liegenden Sporen, an gefärbtem Material, in der inneren Membranschicht kleine, scharf abgegrenzte helle Flecke, meist 2 oder 3 an einer Spore, wahrnehmen. Diese hellen Stellen kommen dadurch zustande, daß die innere Hautschicht hier nur ganz geringe Dicke besitzt, und sind, wie wir später sehen werden, als Keimporen anzusprechen (Fig. 3). Hat man sich erst einmal an ausgekeimten Sporen von dem Vorhandensein dieser Poren überzeugt, so findet man sie auch an frischem Sporenmaterial als runde helle Flecke in der Sporenwand leicht wieder.

Inwieweit diese morphologischen Merkmale für die Artunterscheidung in Betracht kommen, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Die Keimung der Sporen. Das Wichtigste über die Sporenkeimung hat uns Brefeld bereits im 12. Hefte seiner Pilzuntersuchungen mitgeteilt. Danach unterscheiden sich die Sporen von Ustilago tritici und Ustilago nuda von denen des Haferflugbrandes, Ustilago avenae, in einem sehr wichtigen Punkte: sie bilden bei der Keimung zunächst zwar auch einen vierzelligen Keimschlauch, aber sie gehen dann nicht zur Konidienbildung über, sondern jede der vier Zellen des Promycels ist imstande, unmittelbar zu einer Hyphe auszuwachsen. Was Brefelds Abbildungen betrifft, so stimmen unsere Beobachtungen im allgemeinen damit überein, nur scheint die Angabe der Vergrößerung durchweg viel zu niedrig zu sein. Die Sporen von Ustilago nuda (hordei Bref.) haben im Durchschnitt einen Durchmesser von 5—7 μ; Brefeld bildet sie mit ungefähr 4 mm Durchmesser ab unter 350facher Vergrößerung; das würde aber einem wirklichen Werte von ca. 11 μ gleichkommen. Außerdem zeichnet er bei allen gekeimten Sporen die Sporenhaut weit aufgerissen; die Abbildungen beziehen sich zwar nur auf Ustilago nuda, aber Brefeld hebt ausdrücklich hervor, daß er keine erheblichen Merkmale hat finden können, um eine Trennung von Ustilago tritici und Ustilago nuda zu rechtfertigen. Wir konnten einen Riß in der Sporenhaut bei der Keimung nie wahrnehmen; dies ist auch durchaus erklärlich, wenn von dem Keimschlauch die oben erwähnten Poren benützt werden. An dem gefärbten Material kann man sich nun leicht davon überzeugen, daß der Austritt des Keimschlauches durch die Keimporen erfolgt (Fig. 2 u. 3). Der Austrittskanal hat einen Durchmesser von 0,6—0,9 μ. Unmittelbar nach dem Passieren des Porus schwillt der Keimschlauch stark an; häufig trifft man 3 μ dicke Keimschläuche, während späterhin die Stärke bis auf 1,5 μ sinken kann. Nach Falck (8), der auf der Narbe gekeimte Sporen von Ustilago tritici abbildet, würden die Keimschläuche in der Dicke dem Durchmesser der Sporen gleichkommen, ja zum Teil noch darüber hinausgehen; solch dicke Keimschläuche habe ich bei den zahlreichen Beobachtungen nie wahrgenommen. Im übrigen ist hier der Austritt aus einem engen Keimporus richtig angedeutet.

Die Infektion. Das Einbringen der Sporen auf die Narben scheint bei Brefelds Versuchen anfänglich Schwierigkeiten bereitet zu haben. Ich fand es am bequemsten, die Hauptblühzeiten, vormittags 9—10 Uhr und mittags 2—3 Uhr, zu benützen; fast jeder Halm zeigt da, im richtigen Entwicklungsstadium, einige offene Blütchen, und die natürliche Öffnung der Spelzen reicht vollkommen aus, um mit Hilfe eines kleinen, mit Brandstaub nur mäßig gefüllten Pinsels, den man über der offenen Blüte leicht ausschlägt, die Narben gleichmäßig und nicht zu dicht mit Sporen zu bestreuen. Die Infektion gelingt übrigens auch bei jenen Blüten, die kurze Zeit vorher gestäubt haben, oder die erst am folgenden Tage sich öffnen; in beiden Fällen muß man jedoch mit der nötigen Vorsicht die Spelzen öffnen. Für unsere Infektionen wurde nur Sommerweizen benützt: Odessa sans barbe, Perlsommerweizen und Kirsches Sommer-Square-head.

Die Sporen bleiben an den Narbenpapillen kleben und keimen so rasch und vollständig wie in der feuchten Kammer; die große Mehrzahl hat nach 24 Stunden gekeimt. Untersucht man nun nach dieser Zeit einen Narbenast unter dem Mikroskop, wobei man darauf achtet, die natürliche Lage von Narbenpapillen und Pilzkeimlingen nicht zu stören, so findet man die Zellen des Narbenastes noch so weit turgescent, daß ihre äußere Form noch vollständig erhalten ist. Die ausgekeimten Sporen haben schon ansehnliche Keimschläuche getrieben; aber diese Hyphen zeigen keine Neigung, in ihre Unterlage einzudringen; ja, die Narbenzellen scheinen überhaupt keinen Reiz auf den Pilz auszuüben, denn die Keimschläuche wachsen ganz richtungslos, darunter eine nicht geringe Anzahl sogar von der Unterlage weg. Noch schöner läßt sich dieser Vorgang beobachten, wenn man einen Ast einer frischen, eben mit Sporen bestreuten Narbe in eine kleine feuchte Kammer bringt, die ein direktes Beobachten mit starken Vergrößerungen gestattet. Hier bleiben die Narbenzellen sehr lange turgescent, die Pilzkeime aber strecken ihre Enden in der Mehrzahl in die feuchte Luft. Daß die Narbenzellen keinerlei chemotropischen Reiz auf die keimenden Sporen ausüben, zeigte uns auch das Verhalten der Sporen, die zufällig an der Schnittfläche des Narbenästchens auskeimten: von 10 Keimschläuchen wuchs nur einer über die Schnittfläche hin und schließlich in eine angeschnittene Zelle hinein, die 9 andern gingen nach allen Richtungen auseinander.

In ihrer natürlichen Umgebung fallen die zarten Papillenzellen bald zusammen; in diesem Zustand des Welkens wird nicht nur der Verband zweier benachbarter Zellen gelockert, sondern auch das Gefüge der Membranen selber. Auf der anderen Seite wird für den Pilz dieser Vorgang wie Austrocknung wirken, deshalb zeigt er jetzt das Bestreben, entweder in das Innere einer Zelle oder zwischen zwei Zellen einzudringen. Dagegen muß ausdrücklich festgestellt werden, daß ein Eindringen der Keimschläuche am ersten Tage nie wahrgenommen werden konnte. Bei den in der feuchten Kammer liegenden Ästen mußte man begreiflicherweise entsprechend länger warten. Geht nun aus unseren Beobachtungen mit großer Wahrscheinlichkeit hervor, daß der Keimschlauch nicht die Kraft besitzt, die unversehrte Wandung der äußerst zart gebauten Papillenzelle, beziehungsweise den Verband dieser Zellen zu durchdringen, so dürfen wir noch viel weniger erwarten, daß es dem Pilz möglich sei, an irgend einer anderen Stelle des Fruchtknotens die Epidermis zu durchbrechen. Schon die Epidermis der beiden Griffel ist verhältnismäßig stark (Fig. 5), eine noch stärkere Cuticula besitzt aber die Epidermis der mit steifen Borsten dicht besetzten Oberseite des Fruchtknotens. Am übrigen jungen Fruchtknoten ist zwar die Cuticula der Epidermiszellen wieder weniger verdickt, aber auf keinem Schnitte der ganzen Untersuchung ließ sich eine Stelle in der Epidermis nachweisen, wo ein Keimschlauch eingedrungen wäre.

Brefeld äußert sich über die Infektion wie folgt (5, p. 21): „Am 3. oder 4. Tage nach der Infektion wurden einzelne der infizierten Blüten

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

untersucht und festgestellt, wie sich die eingeführten Brandsporen verhalten. Es konnte mit Sicherheit beobachtet werden, daß besonders auf der federförmigen Narbe fast alle Sporen in dem Narbensekret ausgekeimt waren, und daß von den Sporenkeimlingen lange Fäden ausgingen, die sich den Narbengeweben angelegt hatten und sich in diesen verloren. Eine weitere Beobachtung, um das Vordringen der Keimschläuche durch die Narbe auf noch weitere Strecken zu verfolgen, stieß insofern auf Schwierigkeiten, als die sichere Unterscheidung der feinen Pilzfäden nach unten allmählich abnahm und somit das Einwachsen der Schläuche durch die Narbe in den jungen Fruchtknoten nicht sicher gesehen werden konnte. Es liegt aber kein Grund vor, der gegen die Annahme spräche, daß die auf der Narbe üppig auskeimenden und in ihren Schläuchen nach unten fortwachsenden Infektionskeime nicht auch weiter vordringen und gleich den Pollenschläuchen in den Fruchtknoten gelangen sollten. Das Gleiche kann von den Sporen gelten, welche an dem jungen Fruchtknoten direkt keimen und in das junge Gewebe desselben eindringen. Weitere als die oben angegebenen Einzelheiten sind mikroskopisch durch Beobachtungen nicht zu ermitteln“. Zur Erklärung müssen wir vorausschicken, daß es Brefeld nicht mehr vergönnt war, die mikroskopischen Untersuchungen selbst durchzuführen, nachdem er sich schon früher ein schweres Augenleiden zugezogen hatte. In diesem Punkt mußte er sich also ganz auf seinen Mitarbeiter, Dr. R. Falck, verlassen. Da für diesen mit den oben angeführten Beobachtungen die mikroskopische Untersuchung abgeschlossen war, lag es für Brefeld sehr nahe, unserem Flugbrandpilze die gleichen Eigenschaften zuzuschreiben wie den früher von ihm auf das Eingehendste untersuchten Erregern der Brandkrankheit bei Hafer, Hirse und Mais. Von diesen Pilzen hat Brefeld nachgewiesen, daß sie durch die Epidermis der jüngsten Organe eindringen und auch im Innern vorhandene Hindernisse durchbohren. Wie wir bereits gesehen haben, besitzen die Keimschläuche von Ustilago tritici eine derartig aggressive Kraft nicht.

Der Weg durch Narbe und Fruchtknoten bis zum Embryo. Alle im Folgenden angeführten Beobachtungen wurden an Mikrotomschnitten gemacht, welche meist 5 μ, ausnahmsweise auch 3 μ dick waren; die Fruchtknoten wurden zum Teil in Längsschnitte, zum Teil in Querschnitte zerlegt. Bei der Färbung der Schnitte hat man darauf zu achten, daß weniger die Zellwände als der Zellinhalt gefärbt werden; man erreicht dadurch, daß die dünnen Pilzhyphen sich scharf vom übrigen Gewebe abheben, ohne daß die Klarheit der Bilder darunter leidet. Eine schöne Differenzierung erhielten wir mit der Heidenhainschen Hämatoxylinfärbung.

Schon 3 Tage nach der Infektion findet man sämtliche Narbenästchen strangartig zusammengefallen und deformiert, so daß man auf den Schnitten nur mehr die Überreste der Zellwände unterscheiden kann. Diese Stränge bieten jetzt in ihrem Innern den Pilzhyphen nicht bloß reichlich Nahrung, sondern gestatten auch ein ungehindertes Längenwachstum. Man kann daher leicht an einem einzigen Längsschnitte eines Ästchens 8—10 parallel und fast gerade verlaufende Pilzhyphen zählen, die nicht durch Verzweigung entstanden sind, sondern noch die ursprünglichen, einfachen Keimschläuche darstellen. Noch üppigere Bilder sieht man nach 5 Tagen, entsprechend dem außerordentlich reichlich auf die Narbe gekommenen Sporenmaterial. An geeigneten Stellen erhält man auf Querschnitten die Ansatzstelle eines Seitenästchens an den Hauptast der Narbe (Fig. 5). Die derbwandigen Epidermiszellen des Hauptastes sind unversehrt, aber der Seitenast mitsamt seinem Ursprung im Hauptast ist deformiert. Die Hyphen haben zum Teil den Seitenast ganz durchwachsen und dringen nun in der durch den Zerfall entstandenen Lücke im Hauptast in die Tiefe. Nach einer kurzen Strecke Weges stößt der Pilz jedoch wieder auf gesundes Gewebe. Er hat nun zwei Möglichkeiten für das weitere Vordringen: entweder er benützt die Interzellularen und hat dabei manchen Umweg zu machen, oder er hat das Glück, den von dem Pollenschlauch gebahnten Kanal zu erreichen. Der erstere Weg bereitet manche Schwierigkeit, da die Interzellularen meist sehr klein sind; dann und wann bekommt man auf Längsschnitten sogar den Eindruck, als wäre die Hyphe vor einem unüberwindlichen Hindernis, also auf dem toten Punkt angelangt. Den anderen Weg aber zu erreichen ist eben ein glücklicher Zufall; gelingt es, dann gibt es den ganzen Griffel entlang und noch auf der kurzen Strecke zwischen Fruchtknotenaußenwand und Integument kein weiteres Hindernis mehr. Nach diesen Erwägungen dürfen wir uns nicht wundern, daß von den an den Enden der Narbenäste so reichlich eingedrungenen Schläuchen immer weniger übrig bleiben, je weiter wir nach unten vorrücken; ja man ist froh, in der Höhe der Fruchtknoten-Epidermis überhaupt noch ein Stückchen Hyphe zu finden.

Was nun die Zeit betrifft, die der Pilz zu dem bis jetzt zurückgelegten Weg — bis zum Scheitel der Samenanlage — braucht, so dürften innerhalb enger Grenzen kleine Schwankungen vorkommen: es ist nicht wahrscheinlich, daß eine Hyphe das innere Integument — das äußere ist zu dieser Zeit bereits aufgelöst — vor dem 7. Tage erreicht, selbst wenn die Spore an einem der unteren Narbenästchen zum Keimen und Eindringen gelangt ist und somit nur einen verhältnismäßig kurzen Weg zurückzulegen hat. Auf der anderen Seite ist dem Vordringen der Pilzhyphe in der Ausbildung der Samenschale wie wir später sehen werden, eine Grenze gesetzt. Sie dürfte bei den von uns untersuchten Weizensorten mit 10 Tagen nahezu erreicht sein.

Ehe wir jedoch dem Pilz auf seinem weiteren Wege folgen, wird es zweckmäßig sein, uns ein ungefähres Bild von der Entwicklung zu machen, welche die Fruchtanlage zur Zeit des Eintreffens der Pilzhyphen am Scheitel der Samenschale zeigt. Die Pollenkörner keimen bekanntlich sofort aus, nachdem sie auf die Narbe gelangt sind; die Pollenschläuche drängen die Papillenzellen auseinander und dringen in der Längsrichtung nach unten vor, um auf dem kürzesten Wege zum Fruchtknoten und in der Fruchtknotenhöhle zur Mikropyle zu gelangen. Im Griffel benützen sie das sogenannte Leitgewebe, das sich in der Fruchtknotenwand bis zum Scheitel der Samenanlage fortsetzt. Hier angekommen, dringt der Pollenschlauch zwischen äußerem Integument und innerer Epidermis der Fruchtknotenwand weiter vor, bis er die Mikropyle, die einzige Öffnung in den Integumenten erreicht hat. Zur Zeit der Befruchtung aber ist es den Keimschläuchen der Pilzsporen noch kaum gelungen, ins Innere der Narbenästchen einzudringen.

Nach der Befruchtung zeigt sich in allen Teilen des Fruchtknotens üppiges Wachstum, wobei das Längenwachstum die Dickenzunahme überwiegt. Während diese Wachstumsvorgänge im Embryosack, inneren Integument und Fruchtknotenwand in gleicher Weise fortschreiten, beginnt bei den Zellen des äußeren Integuments eine Resorption des Zellinhaltes; die Zellen fallen zusammen und schließlich werden auch die Membranen aufgelöst, so daß man bereits 10 Tage nach der Befruchtung nur mehr einzelne Membranüberreste vorfindet. Um diese Zeit beginnen die äußeren Zellen des inneren Integuments sich mit einer Cuticula zu bekleiden, die bald bedeutende Mächtigkeit erlangt. Vom Nucellus ist die äußerste Zellschicht noch dünnwandig, während die nächsten Zellagen mehr oder weniger zusammengedrückt erscheinen und die innersten deutlich den Resorptionsprozeß zeigen. Nur an der Chalaza bleibt vom Nucellusgewebe ein größerer Zellkomplex noch längere Zeit erhalten. Im Embryosack hat sich die Füllung mit Endospermgewebe vollzogen und man kann bereits am 10. Tage eine Differenzierung der äußersten Zellschicht (Aleuronschicht) wahrnehmen. Auf die Entwickelung des Embryos werden wir später zurückkommen.

Kehren wir nunmehr zu dem Pilz zurück, den wir bei seiner Ankunft am Scheitel der Samenanlage verlassen haben. Daß die Pilzhyphe nicht den gleichen Weg im Fruchtknoten einschlägt, wie der Pollenschlauch, erklärt sich aus den Strukturverhältnissen: wenn es auch wahrscheinlich ist, daß zunächst zwischen Integument und Fruchtknotenwand weder Raum- noch Nährstoffmangel eintreten würde, so ist doch schon nach kurzer Zeit die Mikropyle geschlossen und das innere Integument durch eine so starke Cuticula geschützt, daß es der Hyphe unmöglich würde, zum Embryo vorzudringen. Außerdem wäre dies durchaus nicht der kürzeste Weg, was bei dem langsamen Wachstum der Hyphen immerhin zu berücksichtigen ist. Danach dürfen wir erwarten, daß der Pilz versuchen wird, durch das innere Integument und das Nucellargewebe ins Innere der Samenanlage vorzudringen. Das innere Integument besteht aus zwei Lagen von Zellen, die sehr lang gestreckt sind; im Querschnitt zeigen sie in Höhe und Breite annähernd gleiche Ausdehnung, die jedoch nur einen Bruchteil der Länge ausmacht. In jeder der beiden Schichten sind die Zellen sehr regelmäßig aneinandergereiht, indem alle in der Richtung der Längsachse einander parallel laufen; da die Zellen gleich lang sind, so kommen regelmäßige Zellbänder zustande, welche an den Rändern, an denen die Zellenden fast lückenlos zusammenstoßen, nach Art einer Säge gezähnt erscheinen. Die beiden Zellschichten des Integuments sind nun derart übereinander angeordnet, daß die Längsachsen der Zellen zu einander einen rechten Winkel bilden, die Bänder also sich kreuzen. An die Innenseite des Integuments legt sich die Epidermis des Nucellus ohne Zwischenraum an; diese Epidermiszellen besitzen ein viel größeres Volumen als die Integumentzellen und zeigen sowohl in radialer Richtung als auch in der Richtung der Längsachse des Fruchtknotens große Ausdehnung.

Ehe nun von der äußeren Zellage des inneren Integuments eine Cuticula abgesondert wird, kann man da, wo die schmalen Seiten der Zellen zusammentreffen, kleine Interzellularen zwischen je drei Zellen wahrnehmen. Diese winzigen Öffnungen gewähren der Pilzhyphe in beiden Zellschichten den Durchlass (Fig. 6). Und auf ähnliche Weise drängt sich die Hyphe durch das Nucellusgewebe, das gerade am Scheitel in mehreren Zellagen noch vorhanden ist. Auf dieser ganzen Strecke besitzt die Hyphe einen gleichmäßig geringen Durchmesser und schwillt nie knotenförmig an, wie später beim Eindringen in den Embryo. Auch kann man nirgends beobachten, daß die Zellwände durch die vordringende Hyphe seitlich zurückgedrängt werden, wie es Brefeld z. B. für die Flugbrandinfektion bei Haferkeimlingen abbildet. Die beiden Ustilago-Arten unterscheiden sich also auch in diesem Punkt ganz wesentlich von einander, indem unser Pilz eben nur die natürlich gegebenen Zwischenräume zu seinem Vordringen benützt. Nach

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

diesem Verhalten ist die Annahme wohl zulässig, daß der Pilz nicht imstande sein wird, eine etwa vorhandene Cuticula zu durchbohren. Die Bildung der Cuticula an der äußeren Zellschicht des Integuments läßt sich bei einzelnen Fruchtknoten schon 10 Tage nach der Befruchtung beobachten; jedenfalls hat diese Cuticula bereits zwei Tage später beträchtliche Stärke erreicht. Wir betrachten also die Ausbildung der Cuticula als die Grenze für die Möglichkeit des Eindringens der Pilzhyphe in die Samenanlage.

Hat nun das Mycel das Innere der Samenanlage erreicht, so stehen dem weiteren Vordringen zunächst keine Hindernisse mehr im Wege. Denn zwischen Nucellarschicht und Endosperm befindet sich, wenigstens vorerst noch, ein weiter Zwischenraum, der auf der gegen die Placenta gekehrten Seite etwas breiter ist, als auf der gegenüberliegenden. Wenn wir nun das Mycel regelmäßig in der Gegend der Placenta finden, so dürften die räumlichen Verhältnisse für dieses Verhalten des Pilzes nicht bestimmend sein. Wir werden vielmehr den Grund für diese Vorliebe darin zu suchen haben, daß das im Querschnitt fächerförmig nach innen ausstrahlende Gewebe der Naht die Zuleitung der plastischen Stoffee zum Embryosack besorgt; der Pilz hat also in den hier diosmierenden Substanzen eine nie versiegende Nährstoffquelle. Jedenfalls bekommt man den Eindruck, daß nunmehr die Verhältnisse für das Wachstum des Mycels äußerst günstig geworden sind. Denn während auf dem ganzen bis jetzt von dem Pilz zurückgelegten Wege nie eine Verzweigung des Mycels beobachtet werden konnte, beginnt bald nach dem Eintritt in den Embryosack eine sehr üppige Verzweigung. Es läßt sich auf Querschnitten bequem verfolgen, wie die Zahl der Mycelstücke nach unten rasch zunimmt; schon etwa 0,2 mm unterhalb des Scheitels der Samenanlage ist die Menge der abwärts strebenden Hyphen so zahlreich geworden, wie uns die Fig. 7 zeigt. In dieser Abbildung ist jedoch nur ein Teil von dem in einem und demselben Embryosack vorhandenen Mycel wiedergegeben; eine gleiche Menge befindet sich auf der anderen Seite der Naht und etwas weniger an den gegenüberliegenden Stellen des Endosperms. Ob die ganze Masse von einer oder von mehreren eingedrungenen Hyphen abstammt, ließ sich bei diesem Fruchtknoten nicht mehr feststellen, weil das Mycel sich nicht zurück bis zu den Integumentschichten verfolgen ließ.

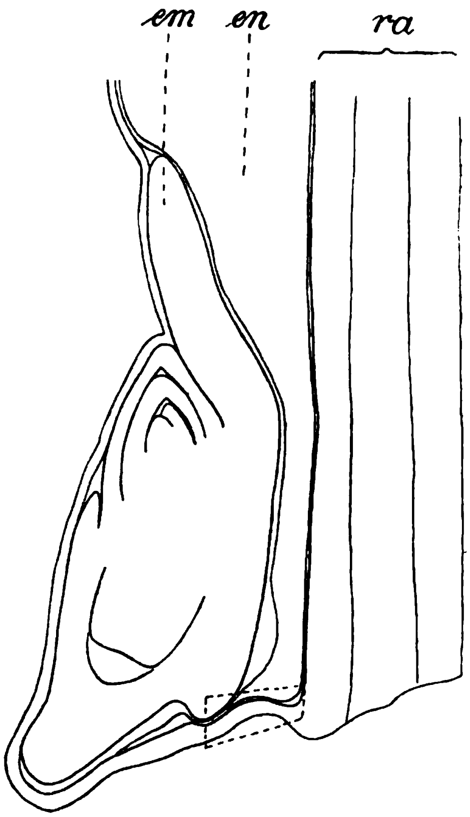


Fig. 1. Perlsommerweizen, 3 Wochen nach der Infektion. Medianer Längenschnitt durch den unteren Teil des Fruchtknotens. em Embryo, en Endosperm, ra Raphe. Vergr. 40.

Die einzelnen Mycelfäden wachsen fast alle annähernd geradlinig in die Tiefe. Die Hyphen liegen zum Teil dem benachbarten Gewebe, dem Nucellar- und Endospermgewebe, dicht an, aber es war nie möglich, das Eindringen einer Hyphe in diese Gewebe zu beobachten. Was die Längenausdehnung betrifft, in der man in einem Fruchtknoten Mycel findet, so läßt sich dasselbe 12 Tage nach der Infektion vom Scheitel der Samenanlage an auf eine Strecke von 0,5 mm abwärts in plasmaerfülltem Zustand nachweisen. Erst kurz vor dem Aufhören des Mycels wird die Anzahl der Fadenstückchen auf den Querschnitten stark vermindert; es sind also nur verhältnismäßig wenige Schläuche, die den anderen etwas voraneilen. Endlich verdient noch der Umstand Beachtung, daß das Mycel mehr und mehr von der Naht aus nach rechts und links an Breitenausdehnung gewinnt, je weiter wir nach unten fortschreiten.

Das Eindringen des Mycels in den Embryo. Ungefähr 3 Wochen nach der Infektion ist der Pilz mit den ersten Hyphen beim Embryo angekommen. Nachdem die Hyphen das untere Ende der Raphe erreicht haben, biegen sie unter Benutzung der zwischen Endosperm und Samenschale freigebliebenen Bahn nach vorn um und gelangen nach einer kurzen Strecke Weges zu dem untere Ende des Scutellums (vergl. Fig. 1 u. 2 im Text). Dieses zeigt schon ganz die Form, die es auch im ausgewachsenen Zustande besitzt, doch nimmt es bis zur Reifung noch bedeutend an Umfang zu, worauf schon die zahlreich vorhandenen Kernteilungen hinweisen. Am Keimling kann man jetzt bereits die Coleoptile mit der Knospe, die gestauchte Achse und das Würzelchen unterscheiden. Zwischen Scutellum und Endosperm befindet sich eine breite Schicht stark zusammengedrückter Zellen (Fig. 8), deren Kerne größtenteils verschwunden sind; diese Zellschicht wird ihrerseits vom Scutellum durch eine Schleimmasse von wechselnder Stärke getrennt. Sobald nun die Hyphen das Scutellum erreicht haben, suchen sie sofort in dessen Gewebe einzudringen; die ersten Hyphen wachsen also in die Randpartieen des Scutellums ein, darunter nur wenige auf der Vorderseite, die große Mehrzahl auf der Rückseite. Auf der Vorderseite wachsen die Fäden nicht bis zur Mitte, sondern nur eine kurze Strecke am Scutellum entlang; ein Eindringen in den mittleren Teil, also direkt in die Plumula, wurde nie beobachtet. Die später ankommenden Hyphen wenden sich fast ausschließlich gegen die Rückseite des Scutellums

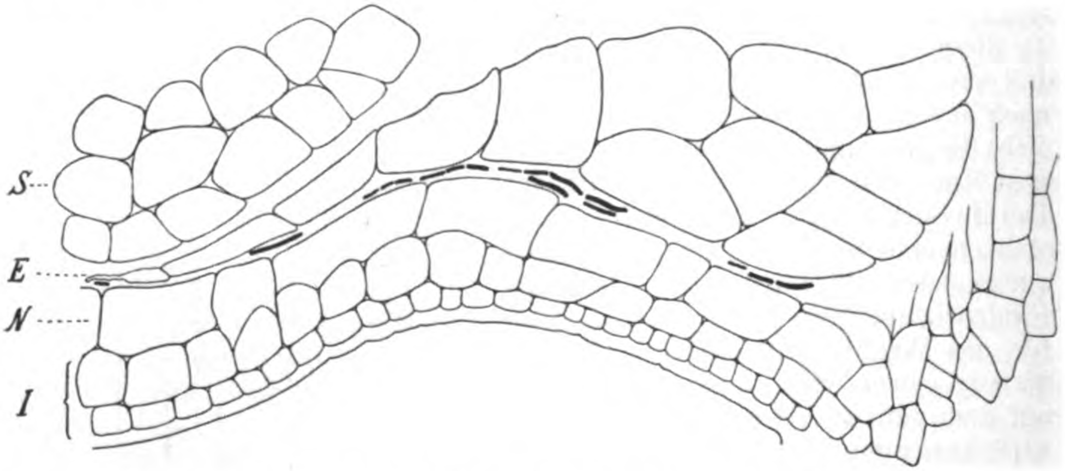


Fig. 2. Perlsommerweizen, 3 Wochen nach der Infektion. Das in Fig. 1 durch Striche bezeichnete Stück ist bei stärkerer Vergrößerung gezeichnet. S Scutellum, E Endosperm, N Nucellarepidermis, I Integument. Zwischen Endosperm und Samenschale liegen die schwarz dargestellten Mycelstücke. Vergr. 360.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

und wachsen in der erwähnten Schleimschicht nach der Mitte zu weiter, um hier endlich Einlaß zu finden. Die große Mehrzahl der Hyphen dringt also zwischen den Saugzellen in den Embryo ein. Auf ein Hindernis scheinen sie dabei nicht zu stoßen, wenigstens bemerkt man nie eine Anschwellung vor dem Eintritt, auch verlaufen die zwischen den Saugzellen gefundenen Mycelstücke meist gerade.

Im Innern des Scutellums wachsen die Hyphen zwischen den Zellen, ohne jedoch ausschließlich die Interzellulargänge zu benützen. Ja es scheint, als drängten die Hyphen mit Vorliebe die Zellwände an den zwischen den Interzellularen gelegenen Partieen auseinander (Fig. 9); an einer solchen Stelle sehen wir das Mycel eine knotenförmige Anschwellung bilden, die sich auf den Interzellularraum beschränkt; von hier aus wächst es dann als normale Hyphe zwischen den Zellen weiter. Sehr bald hat es die Mitte des nur geringe Dicke besitzenden Scutellums erreicht, folgt nun den langgestreckten Zellen der Gefäßbündelanlage und biegt mit diesen in das zwischen Scheitel und Wurzelanlage befindliche Gewebe des Keimlings ein (Fig. 10 u. 11). Dies ist der äußerste Punkt, den der Pilz vier Wochen nach der Infektion erreicht.

Die Überwinterung im Samen. Bei rasch reifenden Weizensorten wird bald nach dem zuletzt beschriebenen Zustand die Reifung sich vollziehen, die sich nach zwei Richtungen äußert. Einmal ist es ein Austrocknungsprozeß, der in seinem Anfang eine Konzentrierung des Zellsaftes bewirkt. Außerdem beginnt das Plasma Öltropfen abzuscheiden; und zwar scheint diese Ölbildung im Scutellum sehr früh einzutreten, wenigstens sehen wir bei Kirsches Squarehead bereits nach 4 Wochen die Ölschicht mantelförmig das Plasma umgeben. Diese Weizensorte, von der allein das ausgereifte Korn untersucht wurde, hat aber von der Blüte bis zur Schnittreife nahezu acht Wochen gebraucht. In den letzten vier Wochen entwickelte sich nun das Mycel noch üppig weiter, wenn auch das Längenwachstum offenbar verlangsamt wurde. Wir finden am Schluß überall im Embryo Mycel, nur die Wurzelanlage macht eine Ausnahme; das Gewebe rings um das Würzelchen herum ist vom Pilzgewebe durchsetzt, aber das Würzelchen selber bleibt verschont. Im übrigen ist die Verteilung des Mycels in den Organen des Keimlings einschließlich des Scutellums eine recht gleichmäßige. Selbst bis zum Scheitel des Vegetationspunktes sind die Hyphen vorgedrungen, und nur die äußere Begrenzung der Organe scheint dem Wachstum der Hyphen ein Ziel gesetzt zu haben. Diesen Eindruck gewinnt man bei der bis zum Rand des Vegetationsscheitels vorgedrungenen Hyphe: die gerade Fortsetzung ist versperrt, deshalb wird nach rechts und links ein Ausweg gesucht (Fig. 13). Die Zuwanderung von Mycelfäden zum Scutellum scheint ebenfalls fast bis zum Schluß fortgedauert zu haben; in diesem Sinne dürften wohl die außerordentlich reichlichen Mycelansammlungen an und zwischen den Saugzellen gedeutet werden. (Fig. 12.)

Das Mycel des reifen Korns weicht in mehreren Punkten von dem ab, was wir bisher beobachtet haben. In der ganzen Periode des vegetativen Wachstums ließen sich nur geringe Schwankungen in der Stärke der Pilzfäden nachweisen; die Wandung des Mycels war sehr dünn und der plasmatische Inhalt färbte sich fast immer homogen. Im reifen Korn dagegen sind die Hyphen meist mehr oder weniger stark angeschwollen; dafür reichen natürlich die Interzellularräume längst nicht mehr aus. Deshalb werden die Zellen des Wirtes so weit eingedrückt, als ihre Wandung mit den Hyphen in Berührung kommt. Es handelt sich also dabei niemals um ein Eindringen des Pilzes in eine Wirtszelle, sondern nur um Einstülpungen der Zellwände unter der Einwirkung der Hyphe (Fig. 14); wir können daraus entnehmen, daß der Turgor in den Pilzhyphen größer ist als in den Zellen des Weizenembryo. Außerdem sind jetzt die Wände der Hyphen deutlich verdickt, so daß es möglich ist, die Wandstärke zu messen; sie beträgt 0,7 μ. Endlich färbt sich auch der Zellinhalt nicht mehr gleichmäßig, wie früher, sondern macht einen schaumigen Eindruck; wir dürfen daraus schließen, daß ebenso wie beim Embryo auch in dem Pilz Fettröpfchen abgeschieden worden sind. Das Pilzmycel hat also ebenfalls eine Dauerform angenommen, welche ihm ermöglicht, eine beliebig lange Ruheperiode mitzumachen.

Es liegt nun nahe, die hier gefundene außerordentlich üppige Ausbreitung des Mycels mit der ungewöhnlich langen Reifungsdauer von Kirsches Squarehead in Zusammenhang zu bringen. Es mögen wohl Unterschiede zwischen den einzelnen Weizensorten vorhanden sein und ebenso mag die Witterung der einzelnen Jahre gewisse Variationen bedingen; doch können uns darüber erst weitere vergleichende Untersuchungen Klarheit bringen. Auch Heckes Befunde bei der Gerste dürfen wir, wenn auch nur in bedingter Weise, mit unseren Beobachtungen vergleichen. Er hat allerdings die Gerstenkörner erst 44 Stunden gequellt, bevor er den Embryo zur Untersuchung verwendete; trotz dieser Quellung müßte sich aber die Überwinterungsform nachweisen lassen, vorausgesetzt, daß sie bei der Gerste ebenso deutlich ausgebildet wird, wie bei dem von uns untersuchten Weizen. Da nun Hecke Verschiedenheiten in der Ausbildung der Pilzhyphen nicht beobachtet hat, wäre es wohl weiterer Untersuchung wert, ob die Überwinterungsform des Pilzes allgemein bei Gerste und Weizen verschieden ausgebildet ist. Diese Frage gewinnt noch an Interesse durch die Beobachtungen, die neuerdings bei Beizversuchen mit hohen Temperaturen gemacht worden sind; während bei der Gerste die an verschiedenen Orten angestellten Versuche übereinstimmend eine vollständige Entbrandung des Saatgutes ergaben, waren die Erfolge beim Weizen nicht befriedigend.

Von besonderen Fällen mag erwähnt werden, daß das in die Samenanlage eingedrungene Mycel nicht immer in die Tiefe weitergewachsen ist, sondern sich am Scheitel in der vom Nucellargewebe umschlossenen Höhlung ausgebreitet hat. So fanden wir hier einmal in einem Fruchtknoten von Odessa sans barbe zwei Wochen nach der Infektion einen dichten Mycelknäuel und ebenso einmal bei Perlsommerweizen in einem drei Wochen alten Fruchtknoten. In beiden Fällen konnte das Mycel nur an den bezeichneten Stellen nachgewiesen werden.

Allgemeine Ergebnisse und Folgerungen:

Wenn wir jetzt den Verlauf der Infektion überblicken, so müssen wir die bedeutsame Tatsache feststellen, daß der Pilz in dem ganzen ersten Abschnitt seiner Entwicklung, vom Eindringen des Keimschlauches in die Narbe bis zum Ruhestadium im reifen Korn, das Gewebe seines Wirtes in keiner Weise angreift oder nachteilig beeinflußt. Schon die Art, wie der Keimschlauch ins Innere der Narbe vordringt, deutet durchaus nicht darauf hin, daß der Pilz die sonst den Parasiten eigentümliche Ak-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

tivität besitzt. Ferner benützt er auf dem ganzen Weg immer den vorhandenen freien Raum. Dabei wird aber der kürzeste Weg eingeschlagen, um zum Ziel, zum Embryo, zu gelangen. Für die erste Hälfte des Wegs, bis zur Samenschale, dürfen wir allerdings annehmen, daß es für die wachsende Hyphe gar keine andere Möglichkeit gibt, ob sie nun dem Kanal des Pollenschlauches folgt oder in den ebenfalls in die Tiefe führenden Interzellularen wächst. Das geradlinie Vordringen wird außerdem noch durch das nach unten fortschreitende Welken und Vertrocknen der Narbe begünstigt.

Anders verhält es sich mit der zweiten Hälfte des Weges, von der Samenschale bis zum Embryo. Auch hier wird ohne irgend welche Abschweifungen der nächste Weg eingeschlagen, obwohl da und dort reichlich Raum zu stärkerer Ausbreitung des Mycels vorhanden gewesen wäre; — die beiden oben erwähnten Fälle dürfen wir zweifellos als Ausnahmen betrachten. — Ebenso konnte nie ein Eindringen von Mycelfäden in das Endosperm wahrgenommen werden. Es liegt also die Annahme nahe, daß auf dieser Wegstrecke die Richtung durch Reizwirkung bestimmt wird; der experimentelle Beweis dafür steht allerdings noch aus. Im reifen Korn endlich finden wir das Mycel nur noch im Embryo und zwar in einer Form, die für das Ertragen einer längeren Ruhepause besonders geeignet ist.

Durch alle unsere Beobachtungen wird also eine so vollkommene Anpassung des Parasiten an seinen Wirt festgestellt, daß wir in der pathologischen Literatur kaum ein Analogon finden dürften. Zunächst mag man vielleicht an die Blüteninfektion beim Mais durch Ustilago Maydis Tul. denken, deren Verlauf Brefeld (3) klargestellt hat. Aber hier muß schon beim Eindringen des Keimschlauches der Widerstand des gesunden Gewebes überwunden werden; ferner findet man bald nachher das Mycel nicht bloß zwischen den Zellen, sondern auch in ihrem Innern. Endlich wird das jugendliche Gewebe sofort zerstört und zum Aufbau der Pilzsporen in der gleichen Vegetationsperiode verwendet.

Doch kennen wir auch andere Pilze, die ebenso wie unser Ustilago tritici die Blüten infizieren und zwischen Infektion und Fruktifikation eine Ruheperiode eingeschaltet haben, z. B. Sclerotinia Cydoniae Schellenb., welche die Mumienbildung bei der Quitte verursacht. In einem wesentlichen Punkt unterscheiden sich aber die beiden Pilze: die Sclerotinia zerstört die junge Fruchtanlage vollständig, so daß der Fruchtknoten nur mehr dem Pilz als Gehäuse für die Überwinterung dient (14).

Am meisten Ähnlichkeit mit dem blüteninfizierenden Flugbrandpilz hat jedenfalls der Lolium-Pilz. Beide haben das Gemeinsame, daß der Pilz in Mycelform im reifen Samen überwintert ohne irgend welche Beeinträchtigung des letzteren. Auch die weitere Entwicklung in der aus dem pilzhaltenden Korn heranwachsenden Pflanze verläuft ganz ähnlich, nur daß eben Ustilago tritici am Ende den Blütenstand des Wirtes zur Fruktifikation aufbraucht, während der Lolium-Pilz sich damit begnügt, in den reifenden Samen einzuwandern. Der Lolium-Pilz hat sich also dem parasitischen Leben in noch höherem Maße angepaßt, so daß er die eigene Fruktifikation eingebüßt hat. (13,9).

In diesem Zusammenhange möchten wir kurz auch die von Eriksson aufgestellte Mykoplasmatheorie berühren (7). Danach sollten die Getreide-Rostpilze ebenfalls eine Ruheperiode im Gewebe der Wirtspflanze durchmachen, ohne letztere in sichtbarer Weise zu beeinträchtigen; in diesem Stadium soll der Pilz sogar auf eine Absonderung innerhalb des Wirtsgewebes verzichten, so daß das Pilzplasma im Innern der Zelle mit dem Zellplasma in Symbiose leben würde. Diese Theorie hat sich nach den Untersuchungen von Klebahn und Marshall Ward als unhaltbar erwiesen; unsere Beobachtungen zeigen nun, wie es sehr wohl möglich ist, daß ein echter Parasit während längerer Zeit mit dem Wirt scheinbar in harmloser Symbiose zusammenleben kann; dabei hat aber der Pilz seine Selbstständigkeit innerhalb des Wirtgewebes niemals anfgegeben.

Endlich müssen wir noch in der Kürze auf die vorhandene Literatur über die Blüteninfektion der Flugbrandpilze zurückkommen. Was Heckes Beobachtungen betrifft, so stehen unsere Befunde damit nirgends in Widerspruch; nach seinen Abbildungen könnte man allerdings im Zweifel darüber sein, ob das Mycel im Embryo bloß inter- oder auch intracellular vorkommt; im Text äußert er sich über diesen Punkt nicht. Daß H. nie solche Mycelanhäufungen wie wir gefunden hat, dürfte in der verschiedenen Reifungsdauer der beiden untersuchten Getreidearten — unter Berücksichtigung der klimatischen Unterschiede von Wien und Hohenheim — eine befriedigende Erklärung finden.

Auch Falck hat in letzter Zeit zwei Abbildungen über Blüteninfektion beim Weizen veröffentlicht (8); die eine stellt keimende Sporen auf einem Narbenästchen dar, sie wurde bereits oben bei der Keimung der Sporen besprochen. Bei der andern handelt es sich um einen „Querschnitt durch den Embryo eines blüteninfizierten Weizenkornes“, oder vielmehr um den Druckfehler zu beseitigen, um einen Längsschnitt. Auf diesem Schnitt unterhalb des Scheitels liegen einige größere mehrfach verzweigte Mycelstücke zerstreut, ohne daß ein Zusammenhang zwischen diesen und dem darunter befindlichen Gewebe zu erkennen wäre. Wir müssen dazu bemerken, derartige Zustände nie beobachtet zu haben; während wir übereinstimmend mit Hecke im reifen bezw. in dem eben zur Keimung sich anschickenden Korn ein Mycel gefunden haben, das sich durch zahlreiche aber kurze und meist leicht angeschwollene Seitenzweige auszeichnet, läuft bei Falck ein Mycelfaden mit schwachen Windungen und zwei Abzweigungsstellen über sieben Zellreihen d. h. über die ganze Breite der Knospe weg. Ferner hat dieser Faden einen Durchmesser von ca. 4 μ, während wir für die Stärke des Mycels im Innern des Embryo — die stark angeschwollenen Hyphen in der Gegend der Saugzellen kommen für den Vergleich nicht in Betracht — höchstens 3 μ, Hecke sogar nur 2½ μ, gefunden haben.

Zum Schluß mögen noch ein paar Fragen berührt werden, die mehr von allgemeiner Bedeutung sind. Da man bei anderen parasitischen Pilzen, z. B. Erysiphe eine weitgehende Spezialisierung festgestellt hat, war es von Interesse, zu erfahren, ob auch bei Ustilago tritici eine derartige Spaltung eingetreten ist. Die Infektion mit Brandstaub von Kirsches

Square head hatte jedoch bei Odessa sans barbe den gleichen Erfolg, wie bei dem Square head. Ob weiter auch Ustilago tritici mit Ustilago nuda vertauscht werden kann, werden die heuer durchzuführenden Infektionen zeigen; morphologisch sind diese beiden Pilze bekanntlich kaum zu unterscheiden.

Endlich möchten wir versuchen, die Faktoren, welche bei der natürlichen Infektion eine Rolle spielen, zusammenzustellen und nach ihrer Bedeutung für die Brandanfälligkeit einzeln zu bewerten. Daß letztere sowohl in den einzelnen Jahrgängen, als auch bei den einzelnen Sorten wechselt, ist den Praktikern seit langem bekannt, doch fehlen unseres Wissens noch genaue statistische Beobachtungen über diese Verschiedenheiten. — Für das Gelingen einer Brandinfektion müssen die folgenden Umstände zusammentreffen: 1) es müssen zur Blütezeit keimfähige Brandsporen in genügender Menge in der Luft vorhanden sein; 2) die Spelzen müssen sich beim Blühen spreizen.

Die das Infektionsmaterial liefernden brandigen Ähren schossen durchschnittlich etwas später als die gesunden. Gleich nach dem Schossen bildet die kranke Ähre noch eine geschlossene Masse. Es reichen aber wenige warme trockene Tage aus, um die Ähre für leichtes Verstäuben des Brandpulvers vorzubereiten. Die Ährchen stehen dann von der Spindel ab und die das Pulver anfänglich bedeckenden Häutchen sind geplatzt. Bei gutem Wetter vermag nun der geringste Luftzug den Sporenstaub fortzuführen. Haben wir dagegen zur Blütezeit regnerisches Wetter, so wird wohl ein Teil der Sporen zu Boden gewaschen und unschädlich, die übrigen aber verkleben an der Spindel zu einer schmierigen Masse, wobei nicht wenige sich zum Keimen anschicken.

Was den zweiten Punkt, das Spreizen der Spelzen beim Blühen, betrifft, so findet es nach Fruwirths (10) Beobachtungen für gewöhnlich bei allen Sorten statt, nur die Größe der Öffnungen ist bei den einzelnen verschieden. Bei warmem Wetter öffnen sich die Blüten normal, ist aber die Witterung während längerer Zeit regnerisch und kühl, so öffnen sie sich wenig oder gar nicht. Im ersten Fall liegen also die Verhältnisse für eine Infektion günstig, im zweiten dagegen ist die Wahrscheinlichkeit sehr gering, da sowohl die Öffnung der Blüten als auch das Verstäuben der Sporen versagt. Danach können wir uns sehr wohl Jahrgänge denken, welche nur einen geringen Prozentsatz an infizierten Körnern liefern. Außer den beiden extremen Fällen, die wir angeführt haben, — nur gute Witterung während der ganzen Blütezeit und nur regnerisch-kühles Wetter — gibt es aber noch alle Übergänge, die für die Infektionsmöglichkeit wieder besondere Kombinationen ergeben. Immer aber werden wir die Stärke des Brandbefalls in den einzelnen Jahrgängen in engem Zusammenhang finden mit der Witterung während der Blütezeit (vgl. Appel a. a. O. S. 13).

Aber auch in dem Fall, daß diese beiden Voraussetzungen zutreffen, daß also keimfähige Sporen auf die Blüten gelangen, erscheint uns eine Infektion selbst bei einer als brandanfällig bekannten Sorte noch keineswegs gesichert. Wir können uns sehr wohl vorstellen, daß äußere Umstände, hohe Temperatur und im Verein damit vielleicht große Trockenheit unmittelbar nach der Blüte die Cuticularisierung der Samenschale der Art beschleunigen, daß der Pilz bei seiner Ankunft am Scheitel der Samenanlage ein verschlossenes Tor findet. Damit dürfte die mehr allgemein gehaltene Anschauung Heckes (12) näher präzisiert sein: „insbesondere die schnellere oder langsamere Entwicklung des Fruchtknotens nach der Infektion, welche von der Temperatur abhängig ist, scheint nach meinen Beobachtungen bei anderen Brandarten (wohl eben Flugbrand des Getreides) hauptsächlich maßgebend zu sein, ob die Infektion zustande kommt oder nicht“.

Was nun die verschiedene Brandanfälligkeit der einzelnen Sorten betrifft, so wird man zunächst geneigt sein, einen der wichtigsten Faktoren in dem verschieden weiten Spreizen der Spelzen zu suchen. Ohne Zweifel steht auch die Zahl der auf die Narben gelangenden Sporen in einem gewissen Verhältnis zu dem Öffnungswinkel der Blütchen. Es scheint jedoch dieser Öffnungswinkel für die Infektionsmöglichkeit von untergeordneter Bedeutung zu sein, da schon bei einer geringen Öffnung die Infektionsgefahr genügend nahe gerückt ist. So spreizt z. B. Kirsches Sommer-Square-head wie die meisten Square head nur wenig beim Blühen, und doch gehört er zu den am meisten anfälligen Sorten. Es liegt also nahe, das wichtigste Hindernis für erfolgreiche Infektion in dem Entwicklungsgang des Fruchtknotens zu suchen. Wir haben bereits früher darauf hingewiesen, daß die Ausbildung der Cuticula an der Samenschale ein weiteres Eindringen von Pilzfäden verhindern wird. Es wäre nun die Aufgabe weiterer vergleichender Untersuchungen, festzustellen, ob die Ausbildung der Cuticula verschieden rasch bei den einzelnen Sorten erfolgt und ob damit ein verschiedener Brandbefall Hand in Hand geht.

Literaturverzeichnis.

1) Appel, O. und Gassner, G., Der derzeitige Stand unserer Kentnisse von den Flugbrandarten des Getreides. (Mitteil. d. K. Biol. Anst. 1907. H. 3. 20 pp.)
2) Brefeld, O., Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Mykologie. Heft 5: Die Brandpilze. I, mit besonderer Berücksichtigung der Brandkrankheiten des Getreides. 1883.
3) —, Heft 11: Die Brandpilze. II. Die Brandkrankheiten des Getreides. 1895.
4) —, Heft 12: Hemibasidii. Brandpilze. III. 1895.
5) —, Falck, R., Heft 13: Brandpilze IV. Die Blüteninfektion bei den Brandpilzen und die natürliche Verbreitung der Brandkrankheiten. 1905.
6) Brefeld, O., Über die Brandkrankheiten des Getreides, ihre natürliche Verbreitung und ihre Verhütung. (Jahrb. d. Deutsch. Landw. Ges. Bd. 22. 1907. p.75—84.
7) Eriksson, J., Über das vegetative Leben der Getreiderostpilze. (K. Svenska Vetensk. Akad. Handl. Bd. 37—39. 1904 u. 1905).
8) Falck, R., Die Flugbrandarten des Getreides, ihre Verbreitung und Bekämpfung. (Journ. f. Landwirtsch. 1908. p. 173—182).
9) Freemann, E. M., Symbiosis in the genus Lolium. (Minnesota botan. Studies. Ser. 3. 1904. p. 329—334).
10) Fruwirth, C., Die Züchtung der vier Hauptgetreidearten und der Zuckerrübe. 1907.
11) Hecke, L., Zur Theorie der Blüteninfektion des Getreides durch Flugbrand. (Ber. d. D. Bot. Ges. Bd. 23. 1905. p. 248—250).
12) —, Die Triebinfektion bei Brandpilzen. Sonderabdruck aus der „Zeitschrift f. d. landw. Versuchswesen in Österreich“ 1907. 4 Seiten.
13) Nestler, A., Zur Kentnis der Symbiose eines Pilzes mit dem Taumellolch. (Sitz. Ber. K. Akad. Wissensch. Wien. math. -nat.Kl. Bd. 113. Abt. 1. 1904).
14) Schellenberg, H. C., Über die Sklerotienkrankheit der Quitte. (Ber. d. D. Bot. Ges. Bd. 17. 1899. p. 205—215).
15) —, Über Sclerotinia Mespili und Sclerotinia Ariae. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 17. 1906. p. 188—202.)
16) Tschermak, E., Die Blüh- und Fruchtbarkeitsverhältnisse bei Roggen und

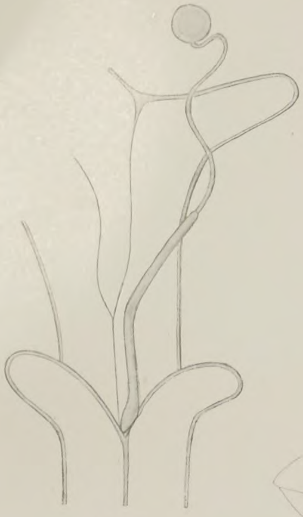


Fig. 4.

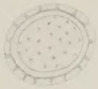


Fig. 1.

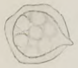


Fig. 2.

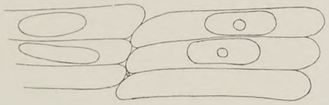


Fig. 6.

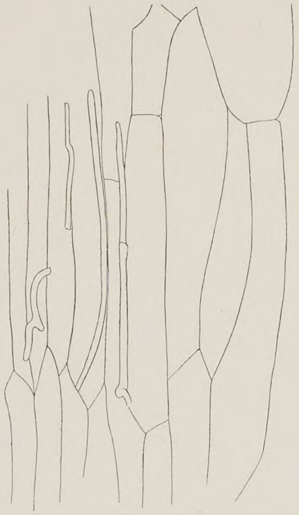


Fig. 10.

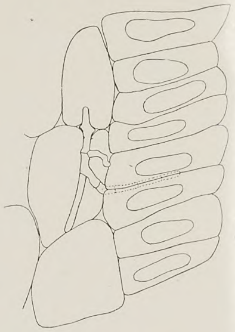


Fig. 9.

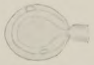


Fig. 3.

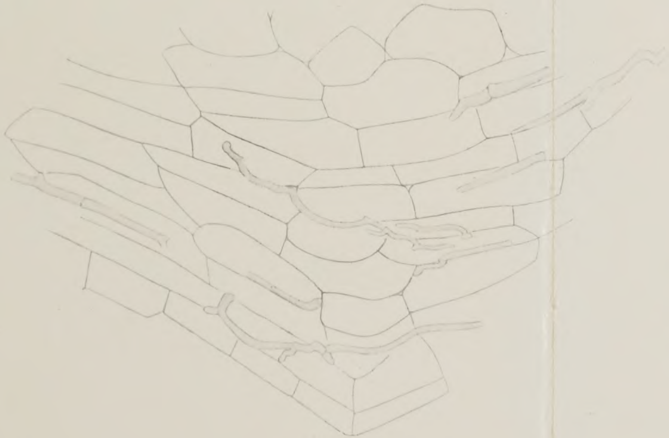


Fig. 11.

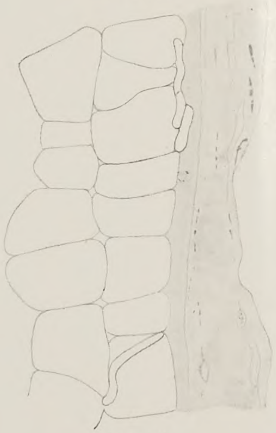


Fig. 8.

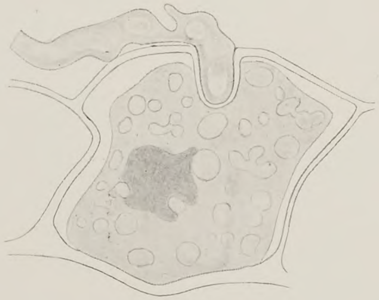


Fig. 14.

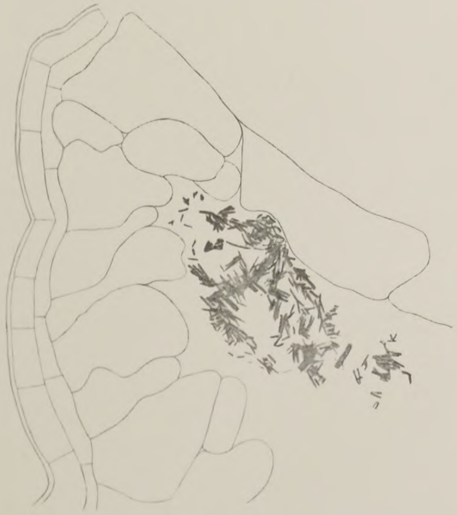


Fig. 7.

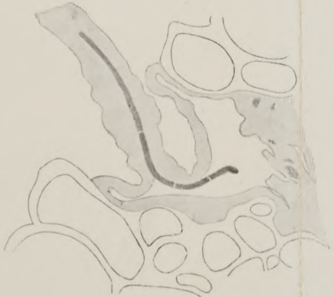


Fig. 5.

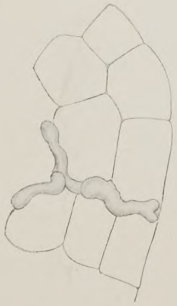


Fig. 13.

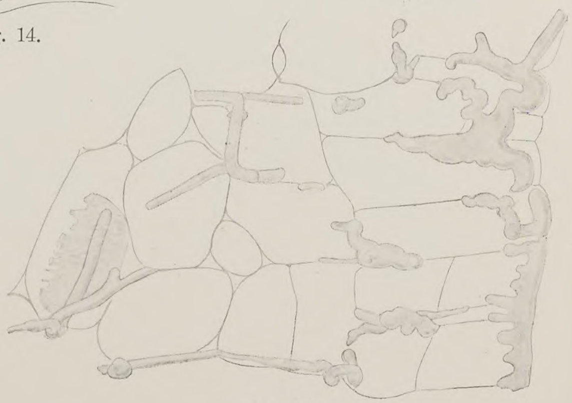


Fig. 12.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Gerste und das Auftreten von Mutterkorn. (Fühlings landw. Zeitung. 1906. Jahrg. 55. p. 194—199).

17) Woronin, M., Die Sclerotienkrankheit der gemeinen Traubenkirsche und der Eberesche. (Mémoires de l'Acad. impér. d. Sc. de St. Petersbourg. Sér. 8. T. 2. 1895. 27 pp.)

Tafel-Erklärung.

Die Zeichnungen wurden mit Zeißschen Apochromat 2 mm und wo nicht besonders angegeben, mit Compensationsocular 6 unter Zuhilfenahme des Abbéschen Zeichenapparates entworfen. Da der Zeichentisch auf gleicher Höhe mit dem Objekttisch stand, so beträgt die gewöhnlich angewendete Vergrößerung ca. 850. Für die Reproduktion wurden die Originale teilweise verkleinert.

Fig. 1. (Oc. 12. Vergr. 1900). Eine reife Spore von Ustilago tritici nach Behandlung mit Essigsäure.

Fig. 2. (Oc. 12). Eine Spore, die sich eben zum Austreiben des Keimschlauches anschickt.

Fig. 3. (Oc. 8). Gekeimte Spore. Der Inhalt ist in den Keimschlauch entleert, von letzterem nur ein Bruchstück wiedergegeben. Außer dem Keimkanal sind noch zwei Keimsporen sichtbar.

Fig. 4. (Oc. 8, $^2/_3$ des Orig.). Teil eines Narbenästchens von einer Weizenblüte. Die daraufliegende Spore hat bereits einen längeren Keimschlauch getrieben, der nur in seiner vorderen Hälfte noch plasmatischen Inhalt führt. Der Keimschlauch sucht zwischen den Papillen einzudringen.

Fig. 5 bis 7: Odessa sans barbe.

Fig. 5 ($^3/_4$ des Orig.). 5 Tage nach der Infektion. Teil eines Querschnittes durch die Narbe; ein bereits zusammengefallenes Seitenästchen der Länge nach geschnitten, Der Mycelfaden hat die durch das Zusammenfallen des Gewebes an der Ansatzstelle des Seitenästchens im Hauptast entstandene Lücke erreicht und wächst in die Tiefe.

Fig. 6 ($^3/_4$ des Orig.). 10 Tage nach der Infektion. Äußere Zellschicht des inneren Integuments; Partie des Scheitels von oben gesehen. An den Stellen, wo die Zellenden zusammenstoßen, sind noch kleine Interzellularen vorhanden; in einer dieser Lücken eine in die Tiefe strebende Hyphe im Querschnitt.

Fig. 7 ($^3/_4$ des Orig.). 12 Tage nach der Infektion. Teil eines Querschnittes durch den Fruchtknoten, ca. 0,2 mm unterhalb des Scheitels der Samenschale; nach unten schließt sich die Placenta an. Die Abbildung enthält von links nach rechts: die äußere Zellschicht der Samenschale mit kräftig entwickelter Cuticula; die innere Schicht der Samenschale, die Zellen etwas zusammengedrückt; die Epidermis des Nucellus, deren große dünnwandige Zellen bei der Fixierung geschrumpft sind. Endlich, von der Nucellar-Epidermis umgeben: Mycelstücke, zum Teil in ganzen Paketen, so daß die einzelnen Fäden sich nicht unterscheiden lassen.

Fig. 8 ($^3/_4$ des Orig.). Perlsommerweizen, drei Wochen nach der Infektion. Querschnitt durch den Embryo in der Gegend der gestauchten Achse; ein Teil von der Anlage des Scutellums mit den Saugzellen in der Nähe des Randes. Pilzhyphen zum Teil den Saugzellen anliegend, zum Teil bereits zwischen die Saugzellen eingedrungen. Rechts vom Scutellum erst eine gleichmäßig gefärbte Schleimschicht, dann eine breitere Zone zusammengefallener Zellen.

Fig. 9. bis 14: Kirsches Sommer-Square head, Längsschnitte durch den Embryo.

Fig. 9 ($^2/_3$ des Orig.). Vier Wochen nach der Infektion. Teil des Scutellums mit den Saugzellen. Die Hyphe ist zwischen den Saugzellen eingedrungen und beginnt sich in dem anliegenden Gewebe reichlich zu verzweigen. An der Stelle, wo eine Abzweigung die Wände zweier benachbarter Zellen auseinanderdrängt, ist die Hyphe etwas angeschwollen.

Fig. 10 ($^2/_3$ des Orig.). Der gleiche Schnitt wie Fig. 9. Partie aus der Gefäßbündelanlage im Scutellum. Hier angekommen wachsen die Hyphen in der Richtung der langgestreckten Zellen.

Fig. 11. Wie bei Fig. 9 ($^2/_3$ des Orig.). Die Gefäßbündelanlage biegt in das Gewebe der Achse ein und den Zellreihen folgend auch das Mycel.

Fig. 12 ($^2/_3$ des Orig.). Längsschnitt durch den Embryo aus dem reifen Korn. Mittlere Gegend des Scutellums mit Saugzellenschicht. Die Pilzhyphen durch Schattierung hervorgehoben.

Fig. 13. Wie bei Fig. 12 ($^3/_4$ des Orig.). Teil des Vegetationsscheitels mit Mycel.

Fig. 14. Wie bei Fig. 12. (Oc. 12, $^3/_4$ des Orig.). Eine Zelle mit eingestülpter Wand, die Einstülpung von der Hyphe ausgefüllt.

Nachdruck verboten

Scolecotrichum graminis Fuck. f. Avenae Erikss.

Von **Fritz Krause.**

Mit 1 Tafel.

In den beiden Provinzen Posen und Westpreußen traten im Laufe des letzten und vorletzten Sommers zahlreiche Fälle von Blatterkrankungen an Hafer ein, die durch den Pilz Scolecotrichum graminis Fuck. f. Avenae Erikss. verursacht wurden, und die in einigen Distrikten bedeutendere Dimensionen angenommen hatten. Obwohl der Krankheitserreger und die durch ihn produzierten Schäden hinlänglich bekannt sind, scheint das charakteristische Krankheitsbild doch durch mancherlei Nebenumstände so stark verwischt werden zu können, daß die Diagnostizierung der erwähnten Krankheitsursache oft mit größerer Unsicherheit verbunden ist. Jedenfalls beweisen die nachstehenden, stark von einander divergierenden Urteile einiger bekannter Phytopathologen, denen allen das gleiche Untersuchungsmaterial zur Bestimmung der Krankheitsursache vorlag, daß noch mancherlei Zweifel über die durch den Pilz Scolecotrichum graminis veranlaßten Flecken bestehen und lassen die folgenden Ausführungen über ein sonst bekanntes Thema gerechtfertigt erscheinen.

Das allgemeine Krankheitsbild der eingesandten Haferblätter äußerte sich etwa wie folgt: Auf den Haferblättern treten scharf begrenzte, blaßgelbe, dunkelumrandete Flecken auf, die eine gewisse Ähnlichkeit mit solchen, wie sie durch Rauchbeschädigungen veranlaßt werden können, besitzen. Anfänglich klein, dehnen sie sich bald über größere Blattstrecken aus, die Blätter färben sich bräunlich oder werden vollkommen gebleicht, während die noch nicht in Mitleidenschaft gezogenen grünen Blattmassen sich nicht selten rot verfärben. Die bleichen Blattstellen zeigen zahlreiche, noch mit dem bloßen Auge erkennbare, oft in Längsreihen angeordnete, tief schwarze Pünktchen, die wie ein feiner Schimmelrasen die bleichen Flecke bedecken.

Im Innern der erkrankten Blattpartien finden sich schon in den Anfangsstadien der Erkrankung Mycelfäden in den Intercellularräumen, aus denen sich später Konidienträger erheben, die Spaltöffnungen durchdringend, um mit der Abgliederung von Sporen nach Art des bekannten Scolecotrichum graminis zu beginnen. Die Sporen sind bei sonstiger Übereinstimmung mit jenen hier jedoch viel kleiner. Die Inhaltsbestandteile der Mesophyllzellen werden deformiert und ballen sich zu mehr oder weniger großen, braunen Klumpen zusammen, während dabei die Chlorophyllkörner schwinden und an ihre Stelle rötlichgelbe, ölartige Kügelchen (Reifetropfen Sorauers) von verschiedener Größe treten. Wie aus den gebräuchlichen Ölreaktionen zu schließen war, besteht aber nicht die ganze Kugelmasse aus einem einheitlichen Öltropfen, sondern höchst wahrscheinlich aus einer protoplasmatischen Grundsubstanz, in der zahlreichere kleinere Öltropfen eingebettet sind. Die Gefäßbündel werden von der Krankheit nicht tangiert, sondern nur das zwischen ihnen befindliche Blattgewebe. Selbst in vollkommen abgestorbenen Blättern treten sie bei der Milchsäurebehandlung noch als unversehrte Gebilde entgegen.

Die mikroskopische Untersuchung der befallenen Haferblätter und die Determination des aufgefundenen Pilzes drängten zu dem Ergebnis, Scolecotrichum graminis für die erwähnten Blattflecken verantwortlich zu machen. Trotzdem die Feststellung des Pilzes ohne nennenswerte Schwierigkeiten erfolgte, herrschten aber dennoch Bedenken gegen die erhaltenen Resultate, weil das allgemeine Krankheitsbild nicht für alle Fälle zutreffend erschien. Die typischen Blattfleckenbilder werden nämlich oft durch das gleichzeitige Auftreten von Helminthosporium Avenae Br. et Cav. und einer unbekannten Sporidesmiumart, teilweise recht bedeutend verwischt. Um bei der gestellten Diagnose auf Scolecotrichumflecke ganz sicher zu gehen, wurde Herr Prof. Hiltner-München ersucht, die erkrankten Haferblätter ebenfalls zu untersuchen und uns das Resultat seiner Befunde zugänglich zu machen.

Hiltner, der die Krankheit schon seit einigen Jahren beobachtet, konstatierte auf Grund seiner bisherigen Erfahrungen, daß es sich um eine Folgeerscheinung von Fritfliegenbefall handele, die nur auf bestimmten Bodenarten auftritt. Die durch die Fritfliegen befallenen Triebe sollen jedoch nicht die krankhaften Erscheinungen selbst aufweisen, sondern merkwürdigerweise nur die diesen benachbarten, woraus er den Schluß zieht, es lägen vermutlich Fernwirkungen von bei der Fäulnis entstehenden Giftstoffen vor. Allerdings zeigten auch die untersuchten Haferpflanzen einen auffallend reichlichen Fritfliegenbefall, wenigstens an den Pflanzen aus dem Sommer 1908, wo genannter Schädling sehr stark aufgetreten war, während im letzten Sommer Fritfliegenspuren an den meisten Pflanzen nicht vorlagen. Um zu erfahren, inwieweit die Fritfliegen an der Bildung der immer zweifelhafter werdenden Flecken beteiligt sein könnten, wurden zunächst experimentelle Untersuchungen nach dieser Richtung hin angestellt.

In einer Infektionskabine wurde Hafer, und zwar in der gleichen Erde, in der sich die Blattflecken reichlich gezeigt hatten, ausgesät und im Laufe seiner Entwicklung mit Fritfliegen besetzt. Die für unser Experiment notwendigen Fritfliegen wurden aus stark befallenen, zur Untersuchung eingesandten Haferpflanzen in der Weise gezüchtet, daß das gesamte Hafermaterial in eine verschlossene Holzkiste gebracht wurde, die in ihrem Deckel eine Glasröhre mit Wattepfropfenverschluß trug. Aus den in den Halmen befindlichen Puppen entwickelten sich bald die gewünschten Fliegen, sammelten sich in dem belichteten Glasrohre an und konnten nach Entfernung des Wattebausches durch Überstülpen eines Regenzrohres gefangen und mit diesem bequem in die Versuchszelle transportiert werden. Schon nach kurzer Zeit setzte eine ganz bedeutende Verwüstung durch die Fritfliegenlarven an den Versuchsobjekten ein. Selbst in den Körnern der reifen Rispen konnte recht häufig die Anwesenheit von Tönnchenpuppen beobachtet werden. Trotz des imensen Fliegenbefalls ließen sich Erscheinungen im Sinne Hiltners nicht wahrnehmen. Es fehlte überhaupt jegliche Spur von Blattflecken und die Versuchspflanzen boten nur das Bild eines typischen Fritfliegenbefalls.

Nach den Beobachtungen von Frank (Krankheiten der Pflanzen. 1896. Bd. 3. p. 79) wäre es immerhin denkbar, die bleichen Flecke auf den Haferblättern doch mit einem stärkeren Fritfliegenbefall in Zusammenhang zu bringen, allerdings würde auch dann die Entstehungsursache von den Vermutungen Hiltners insofern abweichen, als es sich dann um Flecke, die durch Fraß verursacht werden, handeln würde. Frank beobachtete nämlich, „daß die jungen Maden, welche aus den an die Blätter gelegten Eier auskommen, bevor sie an den Grund der Haferpflanze herabkriechen, bisweilen etwas länger an den Blättern verweilen und dann durch ihr Nagen eine Menge bleicher kranker Flecke oben an den grünen erwachsenen Blättern erzeugen.“ Aber auch die letztgenannten Ursprungsmomente für Blattflecken irgend welcher Art fielen in unseren Versuchen vollkommen negativ aus, da, wie gesagt, überhaupt keine solchen auftraten. Unser Versuchsresultat nötigte uns daher die Fritfliegendiagnose fallen zu lassen, ohne jedoch einen passenden Ersatz dafür eruiert zu haben.

Prof. Hollrung-Halle, dem von uns gleichzeitig dasselbe Untersuchungsmaterial zur gefälligen Begutachtung übersandt worden war, führte die Beschädigungen, „soweit sich für das erste ein Urteil über die Krankheitsursachen bei dem eingesandten Hafer bilden ließ“ auf Beschädigungen durch saure Substanzen zurück, in der Annahme, daß eine Ringofenziegelei oder ein anderes industrielles Unternehmen sich in der Nähe der betreffenden Haferfelder, von denen die erkrankten Blätter stammten, befände. Auch in einer weiteren Mitteilung wird die Ansicht ausgesprochen, es lägen Schädiger organischer Natur nicht vor, sondern es müßte sich vielmehr um die Einwirkung sauerer Rauchgase, Sonnenbrand oder niedere Temperaturen handeln.

Nach unserm Dafürhalten und den Erfahrungen, die wir mit der Zeit über die lokalen Verhältnisse des Auftretens der Krankheit gesammelt hatten, konnte weder die eine noch die andere Angabe über die Natur der Flecke in Frage kommen. Habituell zeigen sie zwar viel Ähnlichkeit und Übereinstimmung mit solchen, die durch saure Gase veranlaßt werden. Allein der Umstand, daß sich dasselbe Krankheitsbild auch auf Feldern beobachten ließ, in deren Nähe sich meilenweit keine Fabrikanlagen feststellen ließen, sprach wieder gegen die zitierte Meinung. Die beiden anderen Faktoren für die Fleckenentstehung heranzuziehen, erschien uns ebenfalls außer dem Bereiche der Möglichkeit. Sie traten auch in Feldlagen auf, die nachweisbar von jeglicher stärkeren Isolation geschützt waren. Gegen die kauselen Beziehungen zwischen niederen Temperaturen und Auftreten von Flecken fiel, wenigstens für unsere Fälle, ins Gewicht, daß die Beschädigungen zu einer Zeitepoche einsetzten, in der keine so niederen Temperaturen geherrscht haben, um derartig eminente Verletzungen hervorrufen zu können.

Zweifelsohne war es für uns nun interessant möglichst viele Ansichten über die Gründe für das Auftreten der häufigen Krankheitserscheinung zu hören, weshalb auch Herrn Geheimrat Prof. Sorauer Untersuchungsmaterial mit der Bitte um Aufklärung übersandt wurde. Die uns bald freundlichst übermittelte Antwort betrachtete die vorliegende Erkrankung der Haferblätter wieder von einem anderen Gesichtspunkt. Sorauer konnte feststellen, daß der Hafer reichlich mit Cladosporium herbarum bedeckt sei, sprach den Flecken aber jeden parasitiven Charakter ab und faßte sie als das Resultat physiologischer Störungen auf. Allem Anscheine nach hätten wir es hier mit Flecken zu tun, die er in die Gruppe seiner Fleckennekrose zu stellen bereit sei. Von seiner für Gerste beschriebenen und abgebildeten Fleckennekrose sei die vorliegende Erkrankung zwar habituell verschieden, zeige aber im Erkrankungstypus doch viel Ähnlichkeit mit jener. Bei dem massenhaften Auftreten der Flecke im Sommer 1908 könnten eventuell Ernährungsstörungen durch unzuträgliche Bodenverhältnisse bedingt vorliegen.

Infolge der teilweise recht verschiedenen Ansichten bezügl. des Grundes für das Auftreten der geschilderten Flecken an Haferblättern wurden letztere auch in diesem Jahre mit erhöhter Aufmerksamkeit studiert. Das gewonnene Untersuchungsresultat blieb aber stets dasselbe wie im Sommer 1908, die Flecken mußten wiederum mit dem Auftreten von Scolecotrichum graminis Fuck. f. Avenae Erikss. erklärt werden. Eriksson hatte sich seiner Zeit ebenfalls eingehender mit unserm Pilz beschäftigt und die auf Hafer vorkommende Form, wegen der etwas kleineren Sporen als f. Avenae Erikss. beschrieben. Außerdem finden sich in der Fachliteratur häufiger Notizen desselben Forschers über die Verbreitung des Pilzes und die Schäden, die durch seine Anwesenheit bedingt werden. Waren die von uns gewonnenen Anschauungen über die Ursache der Fleckenerkrankungen an Haferblätter richtig, handelte es sich also in der Tat um Beschädigungen durch Scolecotrichum graminis Fuck. f. Avenae Erikss. dann war Eriksson nach dem Gesagten am ehesten berufen unsere Ansichten zu bestätigen oder zu negieren. Wir konnten es uns daher auch nicht versagen, in gleicher Angelegenheit Prof. Eriksson anzugehen, ihm Untersuchungsmaterial zu senden und um sein Gutachten zu bitten. Schon nach wenigen Tagen erhielten wir die Antwort, daß die Krankheit richtig bestimmt sei.

Werfen wir über die uns zur Disposition stehende Literatur einen kurzen Überblick, um uns an ihrer Hand über das Vorkommen und die Verbreitung der Krankheit zu orientieren, so ergibt sich daraus die Folgerung, daß das Umsichgreifen derselben ebenso ihre Verwüstungen sich in Deutschland bisher nur in bescheideneren Grenzen gehalten haben müssen. Eine umfangreichere Entwickelung des Pilzes, verbunden mit größeren Verlusten, scheint erst im Sommer 1908 und in den folgenden stattgefunden zu haben. Die eben ausgesprochene Vermutung erfährt eine Stütze durch die erwähnte Unsicherheit in ihrer Diagnostizierung, denn bei größerer Häufigkeit ihres Auftretens, wäre es in der Ermittelung der Krankheitsursache sicher zu positiveren Ergebnissen gekommen. Auf Grund unserer Erhebungen über die Ausbreitung der Krankheit in den Provinzen Posen und Westpreußen mag erwähnt werden, daß diese in einzelnen Distrikten eine relativ große war und es daher nahe liegt, ihr eine erhöhte Aufmerksamkeit zu schenken, zumal sie auch nach den statistischen Beobachtungen Erikssons bedeutende Verwüstungen in den Haferfeldern Schwedens angerichtet hat. So werden von letzterem z. B. recht umfangreiche Zerstörungen in den südlichem Teile Schwedens angeführt, in denen die kranken Feldstellen $^1/_{10}$ bis $^1/_5$ des ganzen Areals ausmachten, Fälle, in welchen das Ernteergebnis derselben mit Null bezeichnet werden mußte. Rostrup fand ferner in Vendsyssel den Pilz so häufig, daß sich Gegenmaßregeln, bestehend in einem Abmähen und Entfernen der kranken Pflanzen, sowie in einem tiefen Unterpflügen der Stoppeln, als notwendig erwiesen.

Literatur:

Buchholz, Die Pilzkrankheiten des Sommers 1902 in der Umgegend von Riga. Nach Beobachtungen von A. S. Bondarzew. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 13. 1903. p. 216.)

Carruthers, W., Anual Report for 1898 of the Consulting Botanist. (Sonderabdr. aus: J. A. S. 3. Reihe. Bd. 59. 1898.)

Eriksson, G., Über einige Krankheiten kultivierter Pflanzen und über Maßregeln zur Beschränkung der Pflanzenkrankheiten. (Mitteil. a. d. Experimentalfelde der Kgl. Landb.-Akademie No. 11. Stockholm 1890.)

—: Tungi parasitici scandinavici exsiccati. Tas. 7—8. Stockholm 1891.

Halsted, B. D., Report of the Botanical Department of the New-Jersey Agricultural College Experiment Station. For the year 1895. Trenton N.-J. 1896.

Kellermann, W. A., Ohio Fungi. Fascikel V. (Journ. of Mycol. VIII. 1902. p. 119—125.)

Kirchner, O., Die Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Stuttgart 1906.

Malkoff, K., Die schädlichen Insekten und Pflanzenkrankheiten, welche an den Kulturpflanzen in Bulgarien während des Jahres 1903 geschädigt haben. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1905. Bd. 15. p. 53.)

Pammel, L. M., New fungus diseases of Gowa. (The Journal of Mycology. Vol. VII. No. 2. p. 95—103.)

—: Fungus diseases of Grasses. (Bulletin No. I des Jowa Geological Survey. Des Moines 1901. p. 185—292.)

Rabenhorst: Kryptogamen-Flora. I. 8. 1907. p. 794.

Rostrup, E.: Oversigt over de i 1891 indlöbne Forespörgsler angaeende Sygdomme hos. Kulturplanter N. 8. Separatdr. a. Tidsskrift for Landökonomi. Kopenhagen 1892.

Rostrup, E., Oversigt over de i 1892 indlöbne Forespörgsler angaaende Sygdomme hos Kulturplanter samt Meddelelse om Sygdommenes. (Optraeden hos Markens Avelsplanter over hele Landes No. 19. Tidsskrift for Landökonomi. Kjöbenhavn 1893.)

—: Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme i. 1893. No. 10. (Separatabdr. a. Tidsskrift for Landbrugetr. Planteavl. Kopenhagen 1894.)

—: Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme i 1904. (Separatabdr. a. Tidsskrift f. Landbrug. Planteavl. XII. Kjöbenhavn 1905.)

—: Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme i 1897. (Tidsskr. f. Landbrug. Planteavl V. No. 14. Kjöbenhavn 1898.)

—: Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme i 1896 No. 13. (Separatabdr. a. Tidsskrift f. Landburg. Planteavl IV. Kjöbenhavn 1897.)

Saccardo, Sylloge Fungorum. Vol. IV. p. 348.

Schöyen, W. M., Beretning om Skadeinsekter og Plantesygdomme i 1898. Kristiania 1898.

—: Beretning om Skadeinsekter og Plantesygdomme i 1901. Kristiania 1902.

—: Beretning om Skadeinsekter og Plantesygdomme i 1902. Kristiania 1903.

Sorauer, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 1908. Bd. II. p. 144.

—: Beitrag zur anatomischen Analyse rauchbeschädigter Pflanzen. (Landw. Jahrb. 33. 1904. p. 585—664.)

Speschnew, N.: Les parasites végétaux de la Cakhétie. (Arb. Tiflis. bot. Gart. II. Tiflis 1897.)

v. Tubeuf, Pflanzenkrankheiten durch kryptogame Parasiten verursacht. Berlin 1895. p. 526.

Tafelerklärung.

a und b. Haferblätter mit Blattflecken, verursacht durch Scolecotrichum graminis Fuck. f. avenae Erikss.

c. Einzelne Flecke zu einem größeren Komplex verschmolzen.

d. Querschnitt durch ein Haferblatt mit beginnender Erkrankung.

e. Querschnitt durch ein vollkommen abgestorbenes Haferblatt.

Nachdruck verboten.

Gossyparia ulmi L. auf Viscum album L.

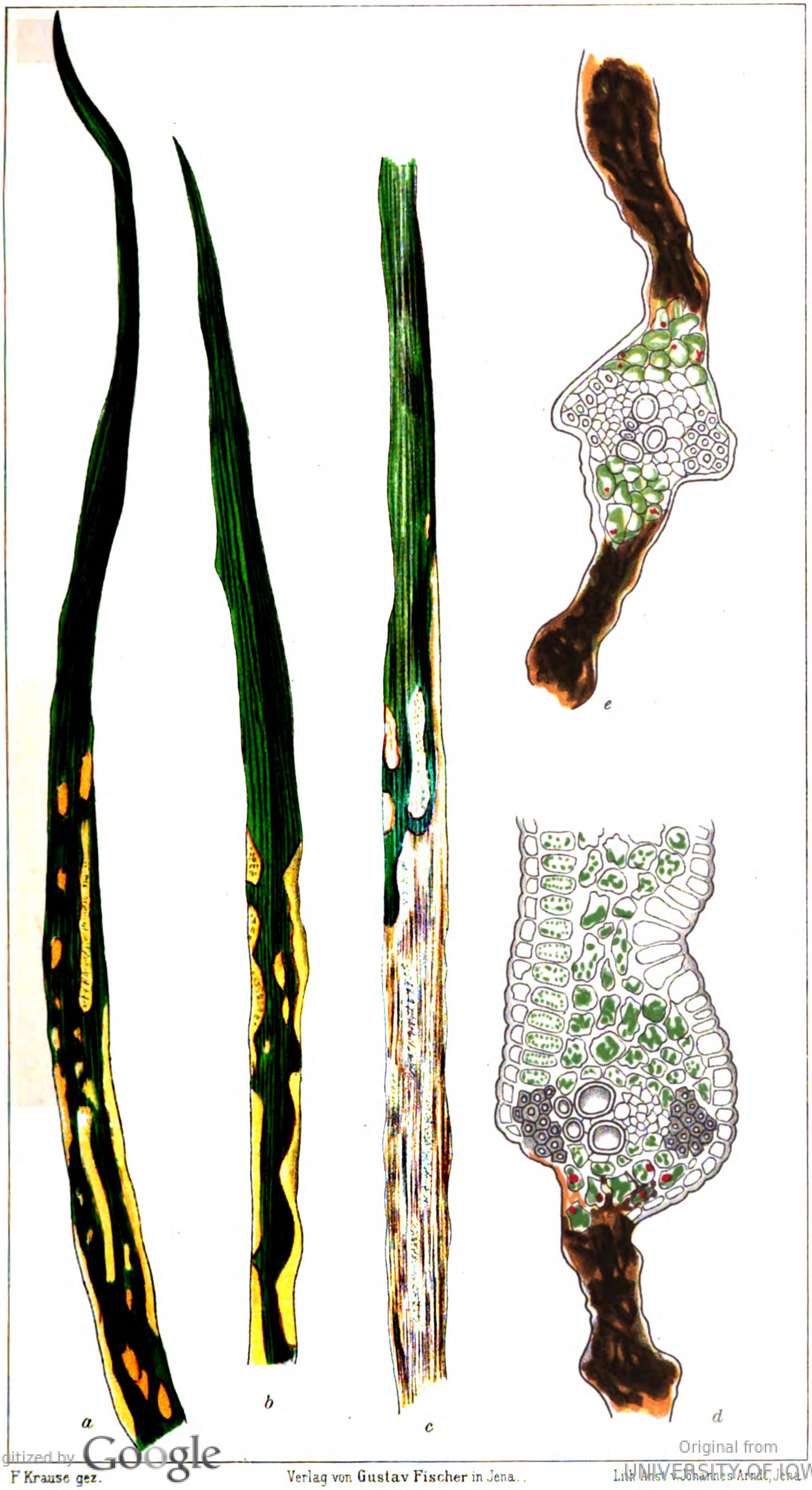
Von Dr. **L. Fulmek** in Wien.

Mit 3 Figuren im Text.

Am 3. August 1909 fand ich in der Nähe von Dürnstein in der Wachau die Schildlaus Gossyparia ulmi L. = spuria Modeer auf einer Leimmistel (Viscum album L.). Der Fund ist deshalb bemerkenswert, weil die genannte Schildlaus gewöhnlich auf der dickborkigen Rinde verschiedener Ulmen, aber bisher noch nicht auf der genannten immergrünen Schmarotzerpflanze gefunden worden ist. Auffälligerweise saßen die bereits parturierenden weiblichen Tiere nur an den Astgabeln der Mistel, teils obenauf in den Gabelwinkeln, teils unterseits an der Gabelastbasis.

Das erwachsene Weibchen ist, schon makroskopisch betrachtet, wohl kaum mit einer anderen Art unserer heimischen Coccidenfauna zu verwechseln. Das dunkelrot bis schwarzbraune Tier wölbt sich mit glattem, nackten Rücken

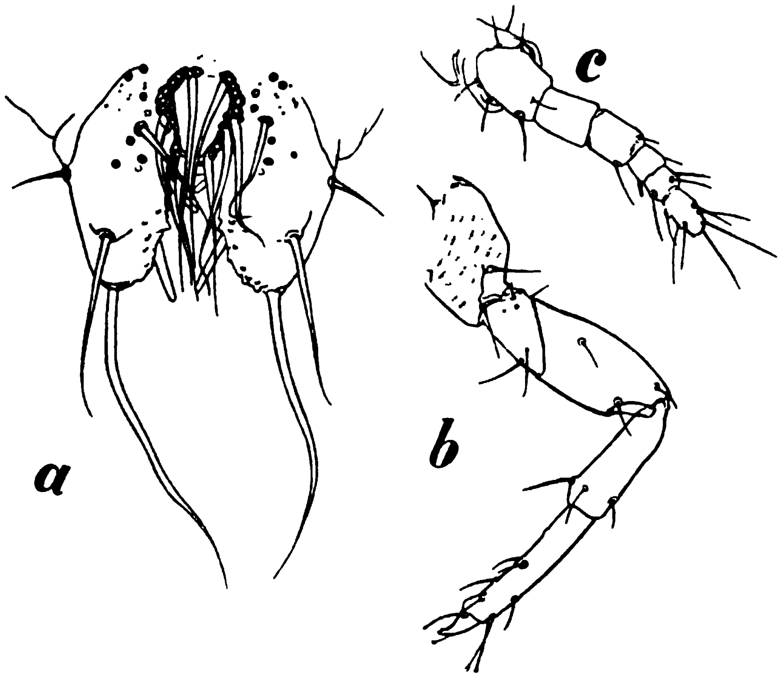
Centralblatt f. Bakteriologie Abt. II. Bd. XXV. *Krause, Scolecotrichum graminis Fuck. f. Avenae Erikss.*



F Krause gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

aus einer die Bauchseite und den Seitenrand des Körpers umgebenden, weißen Wachshülle empor, deren fransiger Rand nur in einem sehr schmalen Saum gegen die nackte Rückenfläche aufgebogen ist. Nach dem Erscheinen der jungen Larven läßt sich das weibliche Tier oft leicht aus der Wachshülle herausheben. Obwohl also schon an diesen Merkmalen die in Rede stehende Schlidlausart leicht erkennbar ist, bringe ich dennoch nachfolgend noch einige Skizzen, (a, b, c) welche die Angaben L. O. Howards (A newly-imported elm insect. Insect life Vol. II, p. 34) in einigen Punkten ergänzen und die sichere Identifizierung der Art unterstützen sollen.

Gossyparia gehört zu jener Schildlausgruppe, deren erwachsene Weibchen deutlich entwickelte Fühler und Beine aufweisen. Weitere Gattungsmerkmale sind: Analring mit 8 Borstenhaaren; die eben ausgeschlüpften Larven tragen am Rücken Längsreihen von Borsten.



Das erwachsene Weibchen von Gossyparia ulmi L. ist ungefähr 2½ mm lang und 2 mm breit, auf der Dorsalseite mit stumpfen Dornstacheln reichlich besetzt, welche sich am kaudalen und kranialen Pol besonders häufen. Die Ventralseite dagegen ist viel feiner und sparsamer behaart. Die Fühler sind 7gliedrig; Basalglied kurz und dick; Fühlerglied 2 länger als das 1.; Glied 3 am längsten und so wie 4 länger als breit; Glied 5 und 6 am kürzesten, quer breiter als lang; Glied 7 ungefähr so lang als 4. Die Art der Beborstung ist aus der nebenstehenden Skizze (c) ersichtlich. Fühlerglied 5 und 7 tragen außer den Borsten noch Sinnesstäbchen. Die Mittel- und Hinterhüften sind durch kurze (allerdings nur schwer bemerkbare) Borstenkämme (aus 2—5 oder 7 sehr kurzen Börstchen bestehend) ausgezeichnet. Tibia kürzer als der Tarsus; letzterer am Ende mit 2 langen geknöpften Borstenhaaren. Klauenende durch eine seichte Kerbe in 2 Spitzen geteilt; zu beiden Seiten der Klaue je eine am Ende geknöpfte Borste (b). Hinterleibsende (a) mit 2, besonders an den einander zugekehrten Seiten warzig-gehöckerten Terminalkegeln, welche in je eine lange Kaudalborste endigen. Analring mit 8 Haaren (je ein Seitenpaar, ein vorderes und ein hinteres Haarborstenpaar). In der Umgebung des Analringes werden bei etwas tieferer Einstellung des Mikroskops einzeln verstreute Drüsenporen sichtbar.

Die unter dem weiblichen Tier gefundenen Larven weichen in ihrem

Aussehen von der Abbildung, die Howard gibt, ab und seien deshalb im folgenden kurz charakterisiert.

Die hellgelben ovalen nach hinten zu verschmälerten Larven sind durchschnittlich 0,59 mm lang (ohne die beiden langen Kaudalborsten) und 0,27 mm breit. Jedes Hinterleibssegment trägt lateral je einen starken Dornstachel; die dadurch gebildeten beiden lateralen Stachelreihen setzen sich über den Thorax nach vorn fort und schließen am Kopfende aneinander. In der Mittellinie des Rückens eine mediane Doppelreihe von kleineren Dornen, die gegen das Hinterende stärker werden und an Länge zunehmen.

Zwischen der Median- und Lateralreihe noch eine subdorsale Doppelreihe sehr kurzer, viel weniger auffälliger Dornen. Chitinpanzer auf der Rückenfläche mit wabig-narbiger Skulptur. Am Kopf 2 schwarze Augenflecken. Fühler 6gliedrig; das 3. Fühlerglied länger als das 2. und ebenso lang als das 6. Glied; 4. und 5. Glied am kürzesten. Fußklauen wie beim erwachsenen Weibchen mit geteilter Spitze.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Bakteriologisches Laboratorium der Zentralanstalt für landwirtschaftliches Versuchswesen auf Experimentalfältet bei Stockholm.

Bodenbakteriologische Untersuchungen.[1]

I.

Einleitung. Methodik.

Von **Chr. Barthel,** Direktor des Bakteriologischen Laboratoriums.

Mit 1 Figur im Text.

Nachdem Verfasser in einem einleitenden Abschnitt eingehend über die von Remy, Hiltner, Ehrenberg, Wohltmann, Fischer, Schneider, Löhnis, Buhlert-Fickendey ausgeführten Arbeiten über die bodenbakteriologische Methodik, sowie über Rahns Einwendungen gegen die Remysche Methode berichtet hat, gibt er eine ausführliche Darstellung der Versuche, die in den Jahren 1908 bis 1909 in dem Bakteriologischen Laboratorium der Zentralanstalt nach dem zuerst von Remy im Jahre 1902 eingeschlagenen Verfahren veranstaltet worden sind.

Die ausgeführten Versuche betrafen nicht die Beantwortung bestimmter bakteriologischer Fragen, sondern ganz und gar die Methodik an sich und deren Verwendbarkeit in verschiedener Hinsicht.

1. Das Fäulnisvermögen.

Bei den Versuchen hinsichtlich des „Fäulnisvermögens" des Bodens wurde eine 1½-proz. Peptonlösung (Pepton Witte) angewandt. Probierröhrchen, welche 10 ccm dieser Lösung enthielten, wurden mit 5 ccm einer Bodenaufschlemmung geimpft, die in der Weise hergestellt war, daß man nach Buhlert und Fickendey 300 g Boden mit 300 ccm sterilem Wasser schüttelte. (Vergleichende Versuche mit dieser Aufschlemmungsmethode einerseits und der Remyschen Methode mit Abwägen des Bodens anderseits ergaben als Resultat eine bessere Übereinstimmung unter den Parallelversuchen im erstern Falle. Dies zeigte sich nicht nur hinsichtlich der Bestimmung des Fäulnisvermögens, sondern auch in bezug auf das Denitrifikations- und das N-Assimilationsvermögen).

---

[1] Die Originalarbeit findet sich in „Kungl. Landtbruks-Akademiens Handlingar och Tidskrift". 1909. (Schwedisch.)

Nach 4 Tagen wurde das bei 20° gebildete Ammoniak mit Magnesia abdestilliert und auf gewöhnliche Weise bestimmt. Man stellte jedesmal 3 Parallelversuche an; außerdem destillierte man ein ebensolches Röhrchen unmittelbar nach dem Zusatz der Bodenaufschlemmung ab, um den schon von Anfang an vorhandenen Ammoniakstickstoff zu bestimmen, welcher sodann von den erhaltenen Resultaten abgezogen wurde.

Es zeigte sich bald, daß die bei der Bestimmung des Ammoniakstickstoffs in den verschiedenen Parallelversuchen erhaltenen Zahlen recht gut unter einander übereinstimmten. Ebenso erwies es sich, daß verschiedene Böden unter einander, aber auch ein und derselbe Boden in verschiedenen Fällen sehr große Schwankungen im Peptonspaltungsvermögen zeigen.

Um festzustellen, daß nicht nur die verschiedenen Röhrchen, die aus derselben Bodenaufschlemmung geimpft sind, untereinander übereinstimmende Werte liefern, sondern daß auch zwei verschiedene Aufschlemmungen von derselben Bodenprobe vollkommen übereinstimmende Resultate geben, wurden folgende Versuche angestellt: Von einem unbepflanzten, dammerdereichen Gartenboden (Boden IV), wurden zwei Aufschlemmungen in gewöhnlicher Weise hergestellt (300 g Boden und 300 ccm Wasser). Das Resultat der Bestimmungen des Ammoniakstickstoffs, die auf die oben beschriebene Weise ausgeführt wurden, war folgendes:

Tab. I.

mg Amm.-N			
Aufschlemmung A		**Aufschlemmung B**	
Parallelzahlen	**Mittelzahl**	**Parallelzahlen**	**Mittelzahl**
10,36 10,08 10,36	10,26	10,08 10,22 10,22	10,17

Dies Ergebnis zeigt ja eine sehr gute Übereinstimmung.

In folgender Tabelle sind die Resultate der Fäulnisversuche mit zwei Böden wiedergegeben, die von Monat zu Monat untersucht wurden. Der eine (IV) ist ein guter Gartenboden, der andere (III B) ein fester Lehmboden.

Tab. II.

mg Amm.-N.					
IV			III B		
Datum	**Parallelversuche**	**Mittelzahlen**	**Datum**	**Parallelversuche**	**Mittelzahlen**
30/6. 1908	8,4 8,4 —	8,4	18/6. 1908	8,12 7,84 7,76	7,90
30/7.	9,52 9,80 9,80	9,70	18/7.	8,40 8,54 8,40	8,44

mg Amm.-N.					
IV			III B		
Datum	Parallelversuche	Mittelzahlen	Datum	Parallelversuche	Mittelzahlen
29/8.	6,72 6,86 6,44	6,67	17/8.	5,60 5,46 —	5,53
28/9.	10,36 10,08 10,36	10,26	19/9.	9,24 8,82 9,38	9,14
29/10.	8,54 8,12 8,54	8,40	19/10.	6,72 6,44 6,72	6,62
27/11.	6,86 7,00 7,00	6,95	18/11.	— — —	—
Dez.	—	—	Dez.	—	—
29/1. 1909	7,98 7,84 7,84	7,88	25/1. 1909	8,12 7,70 7,80	7,91
27./2.	7,14 7,42 —	7,28	22/2.	5,60 6,30 5,74	5,88
31./3.	6,30 5,88 6,86	6,75	—	—	—
27/4.	8,40 9,10 8,96	8,82	20/4.	5,04 5,18 —	5,11

Aus dieser Tabelle geht verschiedenes hervor, was von Interesse ist. Zunächst sehen wir, daß die Parallelbestimmungen gut unter einander übereinstimmen. Fernerhin ist es eigentümlich, daß zwei Böden, die in ihrer Beschaffenheit so verschieden sind, wie IV und III B, dennoch eine ziemlich große Übereinstimmung im Fäulnisvermögen aufweisen. Noch eigentümlicher sind aber die Schwankungen, denen dieses Fäulnisvermögen während verschiedener Monate unterworfen zu sein scheint und die in den beiden Böden im Ganzen genommen völlig parallel verlaufen. So sehen wir, daß die Peptonspaltung bei beiden im Monat August am niedrigsten steht, um schon im folgenden Monat, im September, bis zu einem Maximum zu steigen. Dieses Nachlassen der Bakterienwirkung in einem der wärmsten Monate des Jahres ist sehr eigentümlich; wir werden aber dieses Nachlassen auch auf andern Gebieten der mikrobiologischen Wirkung im Boden wiederfinden. Es ist auch auffallend, daß das Fäulnisvermögen des Bodens während der kältesten Wintermonate nicht merklich abzunehmen scheint. Die Versuche mit Boden III B im November gingen leider verloren, und im Dezember brach im Laboratorium ein Brand aus, welcher die Peptonversuche mit beiden Böden vernichtete.

Daß verschiedene Böden jedoch merkliche Verschiedenheiten im Fäulnisvermögen in demselben Falle aufweisen können, geht aus den untenstehenden Zahlen hervor. Von den hier benutzten Böden ist I eine Klappersteindammerde, II ein mit Lehm vermischter Gartenboden.

Tabelle III.

mg Amm.-N.				
	I.		II.	
Datum	Parallelversuche	Mittelzahl	Parallelversuche	Mittelzahl
2./6. 1908	4,62 4,76 5,00	4,79	8,26 7,98 8,20	8,14

Was den Einfluß der Temperatur angeht, so wurde in dieser Hinsicht ein Versuch in der Weise angestellt, daß Bodenproben auf 10 Röhrchen verteilt wurden, wovon eins wie gewöhnlich zur Kontrolle diente, während man 3 in einem Eisschrank bei 8—9° C, 3 bei 20° C und 3 bei 35° C stehen ließ. Das Resultat dieser Versuche war folgendes:

Tabelle IV.

mg Amm.-N.					
9° C.		20° C.		35° C.	
Parallelversuche	Mittelzahl	Parallelversuche	Mittelzahl	Parallelversuche	Mittelzahl
1,26 2,38 1,44	1,70	8,82 8,54 8,96	8,77	12,60 11,90 12,18	12,22

Da man also offenbar mit dieser Methode einerseits beträchtliche Verschiedenheiten unter verschiedenen Böden und anderseits Verschiedenheiten in verschiedenen Fällen bei einem und demselben Boden erhalten kann, während zugleich die Parallelbestimmungen gut unter einander übereinstimmen, scheint es mir, daß man wenigstens bis weiterhin die Peptonspaltung als ein Maß für das Fäulnisvermögen des Bodens beibehalten könnte. Jedoch muß man, sowohl was das hierzu angewandte Peptonpräparat, als auch die Temperatur, die Boden- und Lösungsmenge, die Versuchszeit und vor allem die Methode der Probeentnahme angeht, ein Übereinkommen unter den auf diesem Gebiete tätigen Forschern zustande zu bringen suchen, so daß eine völlige Einigkeit in betreff des Verfahrens erreicht wird, denn nur hierdurch können natürlich die von verschiedenen Forschern erhaltenen Zahlen unter einander vergleichbar werden.

Dies gilt selbstverständlich nicht nur für die Feststellung des Fäulnisvermögens, sondern in ebenso hohem Grade auch für das Nitrifikations-, Denitrifikations- und das Stickstoffassimilationsvermögen des Bodens.

Man kann natürlich auch, wenn man will, den erhaltenen Ammoniakstickstoff in Prozenten des in den Kontrollproben vorhandenen Gesamtstickstoffs ausdrücken.

2. Das Nitrifikationsvermögen.

Hier zeigte es sich bald, daß es ganz unmöglich war, mit den von Remy, Ehrenberg u. a. angewandten Methoden irgendwelche Resultate zu erlangen. Ehrenberg weist auch darauf hin, daß gerade dieser Teil der Remyschen Methodik zu allererst einer gründlichen Verbesserung bedarf.

Buhlert und Fickendey wandten bei ihren Nitrifikationsversuchen ausschließlich folgende Lösung an:

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

25 ccm Leitungswasser,
0,1 g Ammoniumsulfat,
0,05 g Kaliumphosphat,
1 g basisches Mg-Karbonat.

Diese Lösung wurde mit 20 ccm Bodenaufschlemmung geimpft, und nach 40 Tagen wurde bei Zimmertemperatur der Salpetergehalt der Lösung nach der Methode von Schlösing bestimmt.

Was meine eigenen Versuche angeht, so beschloß ich, zunächst diese letztere, von B. und F. angewandte Methode zu erproben. Jedoch befolgte ich nicht die Schlösingsche Methode der Salpeterbestimmung, da vor kurzem eine weit einfachere und namentlich bei den kleinen Salpetermengen, die hier in Frage kommen, sehr scharfe und empfindliche Methode von Reitmair vorgeschlagen worden ist. Diese Methode, welche schon vorher von Grandval und Lajoux zur Bestimmung kleiner Mengen Salpeter im Wasser angewandt wurde, beruht auf folgendem Prinzip: Bei Behandlung von Nitraten mit Phenolschwefelsäure im Überschuß bildet sich Pikrinsäure, welche bei Zusatz von Wasser und Ammoniak ein sehr stark gelb gefärbtes Ammoniumsalz ergibt. Nitrite liefern diese Reaktion nicht. Man vergleicht nun einen auf die oben angegebene Weise behandelten Bodenextrakt mit einer empirisch festgestellten Skala. Es handelt sich hier also um eine kolorimetrische Methode.

Die Skala wird in der Weise festgestellt, daß 7,22 g Kaliumnitrat in 1 Liter destilliertem Wasser gelöst werden (Lösung 1). Hiervon werden 50 ccm abpipettiert und auf 1 Liter verdünnt (Lösung 2); hiervon werden nunmehr 100 ccm abgehoben, worauf man auf 1 Liter verdünnt (Lösung 3).

1 ccm von Lösung 3 entspricht 0,005 mg N. Von dieser Lösung werden resp. 1 ccm (= 0,0050 mg N), 1,5 ccm (= 0,0075), 2 ccm (= 0,0100), 2,5 ccm (= 0,0125), 3 ccm (= 0,0150), 4 ccm (= 0,0200), 5 ccm (= 0,0250), 6 ccm (= 0,0300) und 8 ccm (= 0,0400 mg N) in Glasschalen auf dem Wasserbad bis zur Trockne abgedampft. Hierauf wird überall 1 ccm Phenolschwefelsäure (100 g kristallisiertes Phenol in 900 g Schwefelsäure) zugesetzt und mit derselben durch Drehen und Wenden der Schale der trockne Rückstand vollständig befeuchtet. Darauf wird mit 5 ccm Wasser verdünnt und 15 ccm 5-proz. Ammoniak zugesetzt. Nun tritt die gelbe Farbe auf. Der Inhalt der Schalen wird in Kolorimeterzylinder von 50 ccm übergespült und das Volumen bis zur Marke aufgefüllt. Ein gleicher Zylinder mit destilliertem Wasser vervollständigt die Skala.

Zur Bestimmung von Salpeter in einer Bodenprobe läßt man 100 g Boden unter oft wiederholtem Schütteln 1 Stunde mit 200 ccm dest. Wasser stehen. Darauf filtriert man und dampft von dem Filtrat 50 ccm in einer Glasschale bis zur Trockne auf dem Wasserbad ein. Die weitere Behandlung ist dieselbe wie hier oben beschrieben. Schließlich führt man in einen kolorimetrischen Zylinder von 50 ccm über, worauf man mit der vorhin aufgestellten Skala vergleicht.

Um das meistens trübe Filtrat des Bodens zu klären, wird das Filtrat in einem Becher mit einigen ccm Kalkwasser (100 g CaO + 1000 ccm H_2O) versetzt auf dem Wasserbad erwärmt, sodann in eine Glasschale filtriert und gewaschen.

Anstatt eine solche vollständige Skala anzuwenden, ist es viel bequemer, nach Söderbaums Vorschlag nur zwei oder drei Lösungen, z. B. zu resp. 5, 10 und 20 ccm von Lösung 3 zu benutzen. Die zu untersuchende

Lösung wird (jedesmal 5 ccm auf 50 ccm) verdünnt, so daß sie in der Farbe schwächer wird als irgend eine der Standardlösungen. Alsdann wird die Farbstärke und damit der Gehalt der Lösung mit Hilfe eines Kolorimeters, z. B. desjenigen Gallenkamps, bestimmt.

Diese Methode zur Bestimmung des Salpeters läßt sich äußerst leicht ausführen und ist daher ganz besonders geeignet, wenn man eine große Anzahl Proben gleichzeitig zu analysieren hat; außerdem ist sie, wie schon erwähnt wurde, besonders scharf und empfindlich.

Außer einer solchen quantitativen Untersuchung wurden noch qualitative Bestimmungen des Ammoniaks mit Nesslers Reagens und zugleich des Nitrats und Nitrits mit Diphenylamin in Schwefelsäure vorgenommen.

Der Salpetergehalt des Bodens wurde zunächst, unmittelbar nach der Probeentnahme, einesteils beim Boden allein, sofern derselbe nach der Trockensubstanz berechnet wurde, andernteils von 25 ccm der Nitrifikationslösung, welche mit 20 ccm Bodenaufschlemmung versetzt war, bestimmt. Die Nitrifikationslösung war die oben angegebene, von Buhlert und Fickendey angewandte, aber statt 4 ‰ Ammoniumsulfat, welche bei den Versuchen derselben zur Anwendung kamen, wurden nur 2 ‰ zugesetzt, weil, wie Löhnis nachgewiesen hat, die Nitrifikation bei einem geringern Gehalt dieses Salzes schneller vor sich geht. Löhnis wandte sogar nur 1 ‰ Ammoniumsulfat an.

Indessen erwies es sich bald bei meinen Versuchen, daß irgend ein durchgreifender Fehler in der Versuchsmethode selbst vorhanden sein müßte, denn in den weitaus meisten Fällen kam gar keine Salpeterbildung zustande, oder, richtiger gesagt, der gebildete Salpeter mußte nach und nach gespalten worden sein, denn, nachdem die Kolben eine Zeit lang bei 20° stehen geblieben waren, war jede Spur mit Diphenylamin nachweisbaren Salpeters verschwunden. Dieses mußte offenbar darauf beruhen, daß bei den obwaltenden Verhältnissen die Denitrifikationsbakterien Gelegenheit erhielten, ihre schädliche Wirkung zu entwickeln. Die Ammoniakreaktion war im allgemeinen nach 40 Tagen verschwunden. Daß dieses wirklich das Verhältnis war, ließ sich außerdem direkt nachweisen, denn, wenn aus einem solchen Nitrifikationskolben eine Platinöse von dem Bodensatz in ein Probierröhrchen, welches Giltays Lösung enthielt, eingeführt wurde, so entstand sofort eine kräftige Denitrifikation, welche von einer lebhaften Gasentwicklung begleitet war.

Es wurde somit bald klar, daß die Methodik in diesem Punkt geändert werden mußte, damit man zuverlässige Resultate erhalten könnte. Anfangs wurde mit der Zusammensetzung der Nitrifikationslösung die Veränderung vorgenommen, daß das basische Magnesiumkarbonat durch Kreide ersetzt wurde. Sowohl Löhnis als auch Karpinski und Niklewski haben nämlich nachgewiesen, daß die Anwendung des zuerst erwähnten Salzes leicht Anlaß zu Ammoniakverlusten gibt. Darauf wurde zunächst ein Versuch mit verschiedenen Temperaturen angestellt. Drei Nitrifikationskolben mit festem Lehmboden (Boden V) wurden bei 20° C. und drei bei 10° C. hingestellt. Nach 20 Tagen wurde der Inhalt der Kolben in der Weise analysiert, daß, nachdem der Inhalt filtriert und gewaschen war, das Filtrat auf 200 ccm verdünnt wurde, worauf man den Salpetergehalt von 50 ccm der Lösung in der vorhin beschriebenen Weise bestimmte. Das Resultat des Versuchs war folgendes:

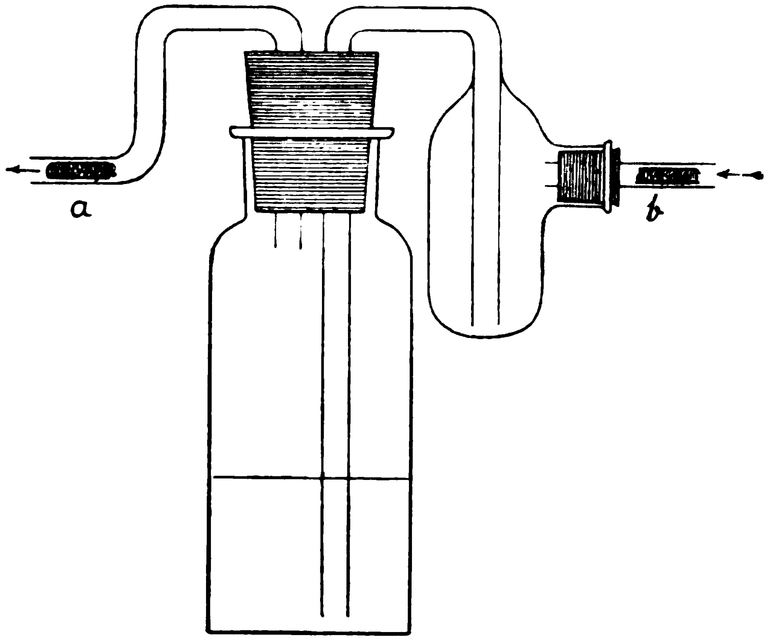
Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Tabelle V.

mg Salpeter in jedem Kolben			
Bei 10°		Bei 20°	
Parallelzahlen	Mittelzahl	Parallelzahlen	Mittelzahl
0,7	0,66	0,5	0,45
0,7		0,4	
0,6		—	

Sowohl die Diphenylamin- als auch die Ammoniakreaktion waren positiv. Hier ist also die Nitrifikation in den bei 10° C. aufbewahrten Kolben etwas besser vor sich gegangen; jedoch tritt der Unterschied nicht besonders hervor.

Boullanger und Massol haben nachgewiesen, daß Ammoniak auch in Form von Fluorid sich unbehindert nitrifiziert. Da anderseits Fluoride auf andere Bakterien kräftig hemmend einwirken, so wurde ein Versuch gemacht, durch Anwendung von Fluorammonium statt des Ammoniumsulfats die Einwirkung der Denitrifikationsbakterien zu verhindern. In den Kontrollkolben mit Ammoniumsulfat bildeten sich nach 20 Tagen bei 20° C. diesmal 2,2 mg Salpeter-N, während in den Kolben mit Fluorammonium der Salpetergehalt = 0 war.



Indessen geht aus den Arbeiten von Boullanger und Massol auch hervor, daß eine kräftige Luftzufuhr in hohem Grade befördernd auf die Salpeterbildung einwirkt und zwar sogar so, daß, wenn eine hinreichend große Menge Impfmaterial angewandt und die Luftzufuhr durch geeignete Vorkehrungen besonders kräftig gemacht wird, sogar sehr große Ammoniakmengen nicht mehr hemmend auf die Nitratbildung einzuwirken vermögen. Ich versuchte nun, diesen Umstand bei meinen Nitrifikationsversuchen zunutze zu machen, und hatte hierbei guten Erfolg. Es wurde auf folgende Weise verfahren: In einen Kolben von 100 ccm Raumgehalt wurde ein Kautschukstöpsel eingefügt, welcher mit zwei Löchern versehen war. Durch das eine wurde eine einfache, winkelrecht gebogene Glasröhre eingesetzt, während in dem andern eine Röhre angebracht wurde, die bis auf den Boden des Kolbens hinabreichte. Oberhalb des Stöpsels war auch diese Röhre im Winkel gebogen; außerdem aber war das freie Ende noch einmal und zwar abwärts gebogen und mit einem Apparat von der Gestalt versehen, wie solche aus der nebenstehenden Figur ersichtlich ist.

Vor Anwendung des Apparats wurde die Nitrifikationslösung eingefüllt; bei **a** und **b** wurden Wattepfropfen eingesetzt; darauf wurde der ganze Apparat im Autoklav sterilisiert. Man muß hierbei die längere Röhre etwas hoch stellen, so daß ihre Mündung sich oberhalb des Niveaus der Flüssigkeit befindet, weil die Lösung sonst leicht in den Apparat bei **b** hinaufgepreßt und von da durch die Watte hinausgedrängt wird. Nach Abkühlen wird die Lösung mit der Bodenaufschlemmung geimpft, worauf man den Apparat bei **a** mit einem Aspirator in Verbindung setzt. Der kleine Apparat bei **b** dient nur dazu, zu verhindern, daß die Flüssigkeit durch den Wattepfropfen hinausdringt, sobald nämlich, wie solches leicht eintreten kann, wenn die Luftsaugung Tag und Nacht in Gang gehalten werden soll, einigermaßen ein Gegendruck entsteht. Geschieht dies, so wird ein kleiner Teil der Flüssigkeit in den kleinen Behälter übergeführt; bei erneutem Saugen jedoch geht diese Quantität wieder in den Kolben zurück. Natürlich läßt sich eine ganze Reihe solcher Apparate mit einander verbinden, und durch eine Öffnung in der Wand des Thermostaten wird die Leitung zum Aspirator geführt. Am Ende der Reihe wird eine gewöhnliche Waschflasche mit Wasser eingeschaltet, so daß die Luft, die durch die Flaschen gesogen wird, sich beständig feucht hält. Auf diese Weise wird verhindert, daß die Flüssigkeit in den Flaschen verdunstet. Der durchgesogene Luftstrom muß sehr kräftig sein, so daß die Bodenpartikelchen zum größten Teil sich schwebend in der Lösung halten.

Zunächst wurde ein Versuch in der Absicht vorgenommen, einerseits den Einfluß der Durchlüftung bei der Bestimmung des Nitrifikationsvermögens, anderseits auch den Unterschied in den Resultaten bei der Anwendung von Magnesiumkarbonat und bei der Anwendung von Kreide als Kohlensäurequelle festzustellen. Die Resultate dieser Untersuchungen gehen aus Tab. VI hervor.

Tabelle VI.

	mg Salpeter-N.			
	Durchlüftet		Nicht durchlüftet	
	Parallelzahlen	Mittelzahlen	Parallelzahlen	Mittelzahlen
$MgCO_3$ bas.	0,06 0,18	0,12	0,0 0,0	0,0
$CaCO_3$	8,0 7,0	7,5	0,0 0,0	0,0

Der zu diesem Versuch angewandte Boden war No. IV; die Dauer des Versuchs betrug 20 Tage (vom 30. Juli bis zum 20. August 1908).

Aus dem Versuche geht deutlich hervor, daß das Magnesiumbarkonat zu dem in Frage stehenden Zweck unbrauchbar ist, sowie ferner, daß man durch diese meine Lüftungsmethode wirklich eine kräftige Nitrifikation erhält und daß der sich bildende Salpeter durch die starke Lüftung genügend gegen Denitrifikation geschützt ist. Sicherlich dürfte man nunmehr zugeben, daß die Denitrifikation nicht ein exklusiv anaërober Prozeß ist, sondern mehr als eine gewöhnliche Gärung angesehen werden muß, daß aber durch die kräftige Lüftung wahrscheinlich die Nitrifikationsorganismen in so hohem Grade begünstigt werden, daß die denitrifizierenden Organismen sich nicht geltend machen können.

Die in Tab. VII verzeichneten Versuche dienen dazu, diesen günstigen Einfluß der Lüftung auf die Nitrifikationsversuche weiter hervorzuheben.

Tabelle VII.

		mg Salpeter-N.			
		Durchlüftet		Nicht durchlüftet	
Boden No.	Datum	Parallelzahlen	Mittelzahlen	Parallelzahlen	Mittelzahlen
II	1./8.	4,0 3,2	3,6	0,50 0,54	0,52
III A.	15./8.	5,0 5,0	5,0	0,17 0,16	0,165
III B.	17./8.	4,0 4,0	4,0	0,05 0,035	0,04
V	8./8.	6,0 5,0	5,5	0,5 0,4	0,45
V	7./9.	6,0 7,0	6,5	2,2 2,2	2,2

Ich stellte auch einige Versuche an, um zu erfahren, welcher Zeitraum zu diesen Nitrifikationsversuchen nach der von mir angewandten Methode der geeignetste wäre. Von Boden IV wurde eine Probe am 29. August entnommen; hiermit wurden 6 Kolben geimpft. 2 wurden 10 Tage lang durchlüftet, 2 20 Tage und 2 30 Tage lang. Das Resultat war folgendes:

Tabelle VIII.

	mg Salpeter-N.	
	Parallelzahlen	Mittelzahlen
10 Tage	0,65 0,50	0,625
20 Tage	4,00 4,50	4,25
30 Tage	10,00 10,00	10,00

Die Ammoniakreaktion war nach 10 und 20 Tagen immer noch positiv, aber nach 30 Tagen negativ. Da außerdem die Menge des disponiblen Ammoniakstickstoffs in jedem Kolben gerade 10 mg beträgt, so ist klar, daß nach 30 Tagen die Nitrifikation hier vollständig ist, so daß sich Differenzen nicht mehr geltend machen können. Offenbar ist es also am geeignetsten, die Versuche nach 20 Tagen abzubrechen. Ein anderer Versuch in derselben Richtung, welcher mit Boden aus einem Beete vor dem Laboratorium angestellt wurde, gab folgende Resultate:

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Tabelle IX.

mg Salpeter-N.		
	Parallelzahlen	Mittelzahlen
20 Tage	5,5 5,0	5,25
30 Tage	8,7 9,5	9,1

Auch hier ist man also nach 30 Tagen ziemlich nahe bei der Grenze des disponiblen Ammoniakstickstoffs.

Recht beträchtliche Unterschiede sind bei Anwendung dieser Durchlüftungsmethode in dem Nitrifikationsvermögen verschiedener Böden zutage getreten. Die niedrigste gefundene Zahl hat bei meinen bisher ausgeführten Untersuchungen 0,12 betragen, während die höchste 8,4 gewesen ist.

Ein Umstand, welcher bei diesen Versuchen natürlich einen großen Einfluß ausübt, ist die Stärke der Durchlüftung. Diese muß so konstant wie möglich und, wie ich schon oben hervorgehoben habe, sehr kräftig sein. Um den Einfluß ungleich kräftiger Durchlüftungen auf die Versuchsresultate festzustellen, nahm ich Versuche in folgender Weise vor: Mittels einer T-Röhre wurden zwei Reihen der von mir angewandten Apparate mit dem Aspirator verbunden. Durch einen Schraubenklemmer wurde die Leitung an die eine Reihe angepreßt, so daß die Luft nur langsam, in aufsteigenden Blasen, die Lösungen passieren konnte, während der Luftstrom in der andern Reihe der gewöhnliche, kräftige war. Der Boden in den schwach durchlüfteten Proben backte natürlich unten im Behältnis zusammen, während der Boden der stark durchlüfteten Proben zum größten Teil durch den Luftstrom in Bewegung gehalten wurde. Die Versuchsdauer war 20 Tage; der Boden war ein leichter Lehmboden (Boden VIII), welcher im Sommer Lupinen getragen hatte und nun mit Herbstsaat (Weizen) besät war. Die Zeit des Versuchs war 18. Januar bis 7. Februar 1909. Die Resultate dieses Versuchs sind in Tab. X wiedergegeben.

Tabelle X.

mg Salpeter-N.		
	Parallelzahlen	Mittelzahlen
Stark durchlüftet	4,8 5,2	5,0
Schwach durchlüftet	1,6 1,2	1,4

Wir ersehen also aus diesem Versuch, daß die durchgesogene Luftmenge pro Zeiteinheit sehr groß sein muß. Außerdem muß sie natürlich während der ganzen Versuchszeit annähernd konstant sein. Um die pro Zeiteinheit durchgesogene Luftmenge zu messen, bedient man sich am besten eines Wassergebläses, dessen Druckleitung durch einen Kautschukschlauch durch den untern Tubulus mit einem Gasometer oder noch einfacher mit einer großen Glasflasche von bekanntem Raumgehalt, welche mit Wasser gefüllt ist, in Verbindung steht. Die Menge Wasser, die z. B. in einer Stunde aus aus der Glasflasche fließt, ist natürlich ebenso groß wie die Luftmenge, die während derselben Zeit die Apparate passiert. Natürlich kann die durchgesogene Luftmenge niemals völlig konstant sein, denn der Druck der Wasserleitung ist ja nicht konstant, aber diese Druckschwankungen spielen, praktisch genommen, keine Rolle.

Bei Betrachtung der in Tab. X verzeichneten Versuchsresultate muß es nun auffällig erscheinen, daß das Nitrifikationsvermögen bei dem allerkältesten Zeitpunkt dieses Jahres dennoch ungefähr ebenso stark ist wie im Sommer. Dieses Verhältnis, welches jedoch nichts mit der vorliegenden methologischen Untersuchung zu tun hat, habe ich auch bei den andern von mir angewandten Versuchsböden herrschend gefunden. Hierüber werde ich jedoch später in einer besonderen Arbeit berichten.

Die hier oben beschriebene Methodik zur Vornahme von Nitrifikationsversuchen scheint mir die geeignetste zu sein, die man bei dem gegenwärtigen Stande der Forschung zur Verfügung hat. Zugleich ist sie verhältnismäßig einfach; zudem sind die zur Ausführung der Methode erforderlichen Apparate nicht teuer.

3. Die Denitrifikation.

Alle Versuchsveranstalter, bis auf Buhlert und Fickendey die sich mit Denitrifikationsversuchen beschäftigt haben, sind unter Benutzung der Giltayschen Lösung zu Werke gegangen.

Die von Buhlert und Fickendey angewandte Lösung war hingegen folgendermaßen zusammengesetzt:

$$\left.\begin{array}{l}1{,}5\ \%\ \text{Glykose}\\ 0{,}3\ \%\ \text{Natronsalpeter}\\ 0{,}1\ \%\ \text{Trikaliumphosphat}\end{array}\right\}\ \text{in Leitungswasser}$$

Anfangs wandte ich bei meinen Versuchen B. und F.s Lösung an. Hierbei wurden 10 ccm der Lösung in Probierröhrchen mit 5 ccm Bodenaufschlemmung geimpft, worauf täglich morgens und abends die Lösung auf Salpetersäure mit Diphenylamin und Schwefelsäure geprüft wurde. Während dieser Zeit standen die Röhrchen bei 20° C. im Thermostat.

Diese Art und Weise, die Denitrifikation zu bestimmen, ist natürlich, was das Prinzip selbst angeht, sehr verschieden von den Methoden zur Bestimmung des Fäulnis- und Nitrifikationsvermögens. Bei diesen letztern wird ja der Prozeß nach einem gewissen, gegebenen Zeitraum abgebrochen, und es wird das während dieser Zeit gebildete Ammoniak, resp. der Salpeter, bestimmt. Hier hingegen wird der Prozeß Tag für Tag verfolgt, und es wird die Zeit für die Vollendung dieses Prozesses als Maß des Wirkungsgrades der denitrifizierenden Bakterien genommen.

Die ersten Versuche ergaben indessen recht unbefriedigende Resultate und zwar in der Hinsicht, daß die Salpeterreaktion niemals gleichzeitig bei allen Parallelproben (gewöhnlich 4 an der Zahl) aufhörte; vielmehr geschah es sehr oft, daß in zwei der Röhrchen die Salpeterreaktion gleichzeitig aufhörte, während sie in den beiden andern noch mehrere Tage hindurch andauerte. So verhielten sich die 4 Parallelproben in einem Fall folgendermaßen: Die Proben waren geimpft worden am 1. Juni 1908. Am 8. Juni morgens hatte die Salpeterreaktion in einem Röhrchen aufgehört, am 8. abends in einem andern. Im dritten Röhrchen hörte die Reaktion erst am 12. auf, während die Reaktion in dem vierten Röhrchen noch am 13. kräftig war. Aus einem solchen Versuch kann man natürlich keine Schlüsse ziehen. Dies wiederholte sich indessen von einem Mal zum andern. Bald ging ich daher zur Anwendung größerer Mengen sowohl der Lösung als des Impfmaterials über. Erlenmeyerkolben von 100 ccm Raumgehalt, welche 50 ccm B. und F.scher Lösung enthielten, wurden jeder mit 25 ccm Bodenaufschlemmung geimpft. Die Parallelproben zeigten nun eine bedeutend bessere Übereinstimmung, indem die Reaktion stets gleichzeitig in allen Kolben aufhörte. Dieses dürfte namentlich auf dem Umstande beruhen, daß der Inhalt der Kolben durch das tägliche Umschütteln vor der Ausführung der Reaktion gehörig vermischt wird, was kaum ebenso wirksam bei Anwendung von Probierröhrchen mit Wattepfropfen geschehen kann. Wendet man indessen diese Erwägung auf die Fäulnisversuche an, so muß ja besonders auffallen, daß die Parallelversuche dort so sehr übereinstimmende Resultate geben, obgleich der Inhalt der Probierröhrchen während der vier Tage, an denen die Röhrchen im Thermostaten stehen, nicht vermischt werden.

Indessen ergaben sich bei Anwendung der Buhlert-Fickendeyschen Lösung immer noch zuweilen unregelmäßige Resultate; ich ging deshalb bald zu Giltays Lösung über. Hier will ich in Übereinstimmung mit H. Fischer nicht unterlassen, auf die Notwendigkeit aufmerksam zu machen, die Lösung vor der Benutzung zu neutralisieren. Dieses ist auch in der ursprünglichen Vorschrift angegeben, ist aber hernach von allen denen, welche die Arbeiten von Giltay und Aberson zitiert haben, weggelassen worden. Anstatt die Zitronensäure mit Soda zu neutralisieren, kann man indessen, was bequemer ist, eine der Zitronensäure entsprechende Menge Natriumcitrat direkt zusetzen. Ehe ich zur Anwendung der Giltayschen Lösung überging, wurden indessen einige Versuche mit und ohne Überschichtung der Flüssigkeit mit Öl vorgenommen. H. Kühl hat nämlich zu beobachten geglaubt, daß die Denitrifikation besser bei Abwesenheit der Luft vor sich geht, weswegen er ein Überschichten mit Öl, z. B. mit Paraffinöl, vorschlägt. Indessen ist diese Ansicht von der Denitrifikation als einem speziell anaëroben Prozeß unrichtig.

Hjalmar Jensen, welcher besonders wertvolle Untersuchungen hinsichtlich der Denitrifikation angestellt hat, stellt hingegen die Theorie auf, daß dieser Prozeß nach seinem innersten Wesen nicht als ein Reduktionsprozeß aufzufassen ist, sondern daß der freie Stickstoff sich bildet infolge des Vermögens der Denitrifikationsbakterien, lose gebundenen Sauerstoff aus den Sauerstoffverbindungen des Stickstoffs auf andere Stoffe überzuführen, wobei die für die Lebenstätigkeit dieser Bakterien notwendige Energie hervorgebracht wird. Für die Richtigkeit dieser Theorie spricht auch das von Orla Jensen gefundene Ergebnis, daß die denitrifizierenden Bakterien größere Mengen Oxydasen zu produzieren vermögen als die meisten andern Mikroorganismen. Meine vergleichenden Versuche gaben auch zu erkennen, daß das Fernhalten der Luft keinen Einfluß auf die Denitrifikationsdauer hatte. Einer dieser Versuche ist in Tab. XI wiedergegeben. + bedeutet hier positive Salpeterreaktion.

Tabelle XI.

A. Ohne Öl

	9./8.		10./8.		11./8.		12./8.		13./8.	
	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.
Kolben 1	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
„ 2	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
„ 3	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
„ 4	+	+	+	+	+	+	+	+	—	

B. Mit Öl

	9./8.		10./8.		11./8.		12./8.		13./8.	
	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.
Kolben 1	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
„ 2	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
„ 3	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
„ 4	+	+	+	+	+	+	+	+	—	

Der Prozeß verläuft in der Giltayschen Lösung sehr gleichmäßig, mit fast absoluter Übereinstimmung zwischen den Parallelversuchen. Beim Impfen von 50 ccm Giltayscher Lösung mit 25 ccm Bodenaufschlemmung beträgt die Zeitdauer der Denitrifikation bei verschiedenen Böden im allgemeinen etwa 2—3 Tage. Wenn die Denitrifikation so schnell vor sich geht, ist es natürlich schwierig, einige typische Unterschiede bei verschiedenen Böden oder bei einem und demselben Boden in verschiedenen Fällen zuwege zu bringen. Es wurden deshalb Versuche gemacht, die Menge von Impfmaterial zu vermindern, so daß statt 25 ccm Bodenaufschlemmung nur 10 ccm angewandt wurden. Ein größerer Unterschied wurde jedoch auf diese Weise nicht erreicht, wie solches aus Tab. XII hervorgeht.

Tabelle XII.

A. 25 ccm Bodenaufschlemmung + 50 ccm Giltayscher Lösung

	13./11.		14./11.		15./11.		16./11.	
	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.
Kolben 1	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 2	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 3	+	+	+	+	+	—	—	—
„ 4	+	+	+	+	+	—	—	—

B. 10 ccm Bodenaufschlemmung + 50 ccm Giltayscher Lösung

	13./11.		14./11.		15./11.		16./11.	
	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.
Kolben 1	+	+	+	+	+	+	—	—
„ 2	+	+	+	+	+	+	—	—
„ 3	+	+	+	+	+	+	—	—
„ 4	+	+	+	+	+	+	—	—

Indessen wurden bei den fortgesetzten Versuchen nur 10 ccm Bodenaufschlemmung angewandt. Sodann wurde ein Versuch gemacht, den Gehalt der Lösung an Salpeter zu erhöhen, um auf diese Weise möglichst zu erreichen, daß der Prozeß etwas langsamer vor sich geht. Von derselben Bodenaufschlemmung wurden 8 Kolben geimpft, von denen 4 0,4 Proz. Salpeter in der Lösung enthielten, während die 4 übrigen 0,2 Proz. enthielten. Das Resultat dieses Versuchs ist aus Tab. XIII zu ersehen.

Tab. XIII.

A. 0,2 % Salpeter

	22/2.		23/2.		24/2.		25/2.		26/2.		27.2.		28/2.	
	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.
Kolben 1	+	+	+	+	+	+	—							
„ 2	+	+	+	+	+	+	—							
„ 3	+	+	+	+	+	+	—							
„ 4	+	+	+	+	+	+	—							

B. 0,4 % Salpeter

	22/2.		23/2.		24/2.		25/2.		26/2.		27/2.		28/2.	
	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.	M.	A.
Kolben 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
„ 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
„ 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
„ 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	

Hier zeigt sich nun deutlich, daß die doppelte Dosis Salpeter auch eine doppelt so lange Denitrifikationsdauer zur Folge hat. Diese ist jedoch hier unnötig lang, weswegen ich bei den folgenden Versuchen einen Mittelweg wählte und 0,3 Proz. Salpeter zu der Giltayschen Lösung, anstatt der vorgeschriebenen 0,2 Proz. zusetzte.

In einer großen Anzahl von Fällen wurden Salpeterbestimmungen von dem Inhalt der Denitrifikationskolben zu dem Zeitpunkt vorgenommen, da die Diphenylaminreaktion aufhörte, und zwar, um zu erfahren, wie lange die Empfindlichkeit dieser Reaktion währte. Bei allen diesen Analysen wurden Werte erhalten, die zwischen 0,01—0,03 mg Salpeter-N in 60 ccm Lösung schwankten. Diese Zahl dürfte also die Grenze für die Empfindlichkeit der Diphenylaminreaktion darstellen.

Schließlich werde hervorgehoben, daß auch bei den Denitrifikationsversuchen dieselbe Beobachtung gemacht werden konnte wie hinsichtlich des Fäulis- als auch des Nitrifikationsvermögens, daß nämlich die Intensität nicht einmal in der allerkältesten Jahreszeit, wenn die Temperatur des Erdbodens bei 0,2—0,3 Meter Tiefe sich um etwa 0° hält. im geringsten geschwächt zu sein scheint.

4. Die Stickstoffassimilation.

Sämtliche Forscher, die sich mit der Anwendung des Remyschen Prinzips auf bakteriologische Bodenuntersuchungen befaßt haben, haben zur Bestimmung des stickstoffassimilierenden Vermögens des Bodens eine für Azotobacter passende Nährlösung benutzt, mochte dies die von Beijerinck angewandte Mannitlösung oder mochten es Lösungen sein, in denen das Mannit durch Glykose ersetzt war. Beijerincks Lösung hat folgende Zusammensetzung:

20 g Mannit,
0,2 g K_2HPO_4,
1000 g Leitungswasser.
Hierzu sind etwa 5 g Kreide zu setzen.

In dieser Nährlösung wächst Azotobacter chroococcum ausgezeichnet, und wenn solche Lösung in ziemlich dünner Schicht in einem Erlenmeyerkolben mit einigen Gramm Boden geimpft wird, so erhält man in den weitaus meisten Fällen nach einigen Tagen, vorausgesetzt, daß die Temperatur günstig ist, d. h. 20—30° beträgt, ein dünnes grauartiges Häutchen, welches, wie die mikroskopische Betrachtung es ausweist, aus Azotobacterzellen besteht, bald dicker wird und Falten bekommt, während zugleich seine Farbe dunkler, in manchen Fällen ganz schwarz wird. Obgleich diese Bakterie (welche übrigens nach der Ansicht mancher als eine chlorophyllfreie Parallelform zu gewissen Cyanophyceen betrachtet werden muß), im Jahre 1901 von Beijerinck entdeckt und beschrieben wurde, ist es einer großen Anzahl von Forschern in fast allen Ländern der

Erde gelungen, dieselbe, oder wenigstens sehr nahe stehende Formen, in fast allen Böden, wofern diese nicht zu unfruchtbar waren, eine zu sauere Reaktion hatten u. dgl., nachzuweisen. Die Biologie dieser Bakterie ist in den letzten Jahren eingehend erforscht worden namentlich von Lipman, H. Fischer A. Koch, F. Löhnis, H. R. Christensen, B. Heinze, S. und H. Krzemieniewski u. a. Es besteht hier nicht die Absicht, auf alle die bei diesen Untersuchungen gewonnenen Resultate einzugehen; ich will statt dessen hier blos erwähnen, daß ich diesen Mikroorganismus mit wenig Ausnahmen überall gefunden habe, wo ich suchte. Besonders leicht ist derselbe indessen in Gartenerden nachzuweisen. Die Größe und Anordnung der Zellen ist in verschiedenen Fällen verschieden. Auf Mannitagar in Strichkultur bildet Azotobacter saftige, weiße Beläge, welche allmählich dunkel und zuweilen ganz schwarz werden. Jedoch habe ich auch in verschiedenen Fällen das im Sarcinastadium gelbgefärbte Azotobacter Beijerinckii gefunden. Löhnis scheint zu der Annahme geneigt, daß diese Schwarzfärbung nicht von Azotobacter selbst herrührt, sondern von Dematium pullulans, welches oft mit Azotobacter auf Mannitagarplatten vereint vorkommt. Wenigstens sagt Löhnis, daß er niemals bei wirklichen Reinkulturen von Azotobacter diese für Rohkulturen so charakteristische Färbung habe finden können. Jedoch ist Löhnis zu behutsam, um bestimmt zu behaupten, daß die dunkle Farbe stets von einer Verunreinigung durch Dematium herrührt, und in seiner letzten Arbeit konstatiert er außerdem selbst, daß er nachher mit unzweifelhaften Reinkulturen zu tun gehabt habe, die dennoch allmählich ganz und gar schwarz wurden.

Bei meinen Plattenkulturen auf Mannitagar trat allerdings oft Dematium als Verunreinigung auf, aber die dunklen Kolonien desselben waren leicht von denen des Azotobacter zu unterscheiden; außerdem zeigte sich in den Fällen, wo die Azotobacterkolonien besonders dunkel gefärbt waren, bei direkter mikroskopischer Untersuchung der lebenden Zellen, daß diese im Plasma selbst dunkelgefärbt waren und zwar sogar in solchen Fällen, in denen jeder Verdacht von fremden Einmischungen als absolut ausgeschlossen gelten mußte. Dagegen ist es klar, daß, wo Azotobacter und Dematium zusammen in denselben Strichkulturen wachsen, die schwarze Farbe des Letztern sich auch dem Erstern mitteilen kann. Ein typisches Beispiel einer solchen Verunreinigung bildete eine Strichkultur einer Rohkultur von Azotobacter von Boden III, welche nach einigen Tagen eine schöne scharlachrote Farbe annahm. Bei näherer Untersuchung erwies es sich daß diese Farbe von einer Fusisporium-Art herrührte, welche als Verunreinigung mit hineingeraten war. Indessen breitete sich bald das Mycelium dieses Fusisporium über die ganze Platte aus, so daß sich leicht auch bei makroskopischer Untersuchung konstatieren ließ, daß diese Erscheinung mit der Azotobacter-Vegetation nichts zu tun hatte.

Mit einem aus Gartenboden isoliertem Azotobacter-Stamm wurde ein Versuch angestellt, um den nach 30 Tagen bei 20° assimilierten Stickstoff zu bestimmen. Es wurde folgendermaßen verfahren: Die zum Versuche angewandte Lösung hatte die Zusammensetzung:

Glykose	2%	in Leitungswasser
Na Cl	0,1%	
K_2HPO_4	0,1%	
Ca CO_3	1,0%	

Zwei Fernbach-Kolben von der Art, wie solche beim Pasteur-Institut zur Herstellung von Diphtherietoxin angewandt werden und von denen jeder 500 ccm der oben genannten Lösung enthielt, wurden jeder mit 1 ccm Kultur des in Frage stehenden Azotobacter-Stammes geimpft. Die Höhe der Flüssigkeit in den Kolben machte nur 1 cm aus, und da die Kolben während der ganzen Versuchszeit mit einem Aspirator in Verbindung standen, so daß die Luft konstant über die Oberfläche der Flüssigkeit strich, so wurde der Inhalt möglichst durchlüftet. Zwei gewöhnliche Stehkolben von 1 Liter enthielten dieselben Mengen Lösung und Kultur. Nach 30 Tagen wurde eine Stickstoffbestimmung bei dem Inhalte sämtlicher Kolben vorgenommen, wobei sich ergab, daß der assimilierte Stickstoff betrug:

Im Fernbach-Kolben 1 = 140 mg N pro Liter,
Im Fernbach-Kolben 2 = 130 mg N pro Liter,
Im gewöhnlichen Kolben 1 = 75,0 mg N pro Liter,
Im gewöhnlichen Kolben 2 = 73,0 mg N pro Liter.

Die mikroskopischen Untersuchungen erwiesen, daß bei Schluß des Versuchs sämtliche Kolben immer noch Azotobacter in Reinkultur enthielten.

Die in den durchlüfteten Kolben gefundenen Stickstoffmengen stimmen ja recht gut mit denen überein, die andere Forscher bei gleichen Versuchsverhältnissen gefunden haben.

Bei meinen Stickstoffassimilationsversuchen benutzte ich immer, wenn es auf direkte Bodenimpfungen ankam, Beijerincks Mannitlösung. Buhlert und Fickendey wandten bei ihren Versuchen eine Lösung von folgender Zusammensetzung an:

250 ccm Leitungswasser,
1 g $CaCO_3$,
2% Glykose,
0,1% NaCl,
0,1% K_2HPO_4.

Diese Lösung wurde in großen Erlenmeyerkolben mit 20 ccm Bodenaufschlemmung geimpft.

Ich fand indessen oft, daß diese Lösung die anaeroben Buttersäurebakterien auf Kosten des Azotobacter begünstigte. Daher wurden 250 ccm Mannitlösung in Erlenmeyerkolben von 1 Liter mit 20 ccm Bodenaufschlemmung geimpft. Stets wurden zwei Parallelversuche angestellt, wobei natürlich der von Anfang an vorhandene Stickstoff nach Kjehldal bestimmt wurde. Nach 30 Tagen bei 20° wurde eine Stickstoffbestimmung des Gesamtinhalts der Kolben vorgenommen; hierbei fand das Verbrennen direkt in diesen Kolben aus Jenaglas statt, um Verluste beim Überführen zu verhindern.

Ist man nun a priori berechtigt, auf Grund der Resultate, die man mittels dieser speziellen Anreicherungsmethode für Azotobacter erhält, bestimmte Schlüsse in betreff des in Frage stehenden Stickstoffassimilationsvermögens des Bodens im allgemeinen zu ziehen? Seitdem Winogradsky im Jahre 1893 die stickstoffbindende, anaerobe Buttersäurebakterie Clostridium Pasteurianum gefunden hat, haben von Pringsheim, Haselhoff und Bredemann ausgeführte Untersuchungen zu erkennen gegeben, daß das Vermögen, atmosphärischen Stickstoff zu binden, sicherlich nicht ausschließlich dem Clostridium

Pasteurianum zukommt, sondern in höherm oder geringern Grade von allen bisher nachgewiesenen anaeroben Buttersäurebakterien, von denen eine sehr große Anzahl sich in allen Böden vorfindet, geteilt wird. Und hiermit nicht genug; vielmehr kommt Löhnis zu dem Resultat, daß das Vermögen, atmosphärischen Stickstoff zu binden, in höherem oder geringerm Grade einer großen Anzahl im Erdboden vorkommender verschiedener Arten von Mikroorganismen zukommt. Indessen steht Azotobacter was die Quantität des gebundenen Luftstickstoffs angeht, allen diesen übrigen Mikroorganismen so weit voran, daß die Arbeit, die diese Bakterie allein ausführt, mit Recht als Maßstab für das Stickstoffbindungsvermögen des Bodens gelten kann.

Im allgemeinen wird der bei den Analysen gefundene Stickstoff pro Liter Nährlösung berechnet. Meinerseits bin ich jedoch der Ansicht, daß dies nur in dem Fall geschehen darf, wenn der in Frage stehende Versuch wirklich mit einem Liter Lösung ausgeführt worden ist. Da dies indessen wegen praktischer Schwierigkeiten nur in seltenen Ausnahmefällen vorkommen dürfte, so würde es wohl richtiger sein, sich damit zu begnügen, wenn man z. B. 250 ccm Nährlösung anwendet, den in dieser Quantität gefundenen Stickstoffzuschuß in mg anzugeben. Soll nämlich diese Quantität auf ein Liter umgerechnet werden, so muß man ja die gefundene Zahl mit 4 multiplizieren; dies bewirkt aber, daß die Parallelbestimmungen, wenn dieselben auch im allgemeinen recht gut übereinstimmen, sehr große Unterschiede aufweisen, da ja die Differenz vervierfacht wird. Die Ziffern gestalten sich sicherlich zuverlässiger, wenn man, wie ich getan habe, sich damit begnügt, gerade den Stickstoffzuschuß anzugeben, den man tatsächlich in 250 ccm Nährlösung gefunden hat. In Tab. XIV ist eine Zusammenstellung einiger solcher Stickstoffassimilationsversuche wiedergegeben, die nach der oben beschriebenen Methode mit Boden III und IV ausgeführt worden sind.

Tab. XIV.

mg assimiliertes N in 250 ccm Lösung					
III.			IV.		
Tag	Parallelzahlen	Mittelzahlen	Tag	Parallelzahlen	Mittelzahlen
16/6.	12,6 11,2	11,9	30/6.	27,3 25,0	26,1
16./7	9,1 8,4	8,8	30/7.	27,3 28,0	27,6
15/8.	14,0 14,7	14,3	29/8.	30,8 28,0	29,4
16/9.	15,4 14,8	15,1	28/9.	21,7 20,3	21,0
19/10.	11,2 13,0	12,1	29/10.	32,2 29,7	30,5

Die in der obenstehenden Tabelle angeführten Zahlen werden völlig genügen, um zu beweisen, daß sich mittels dieser Methode eine sehr nahe kommende Übereinstimmung unter den Parallelproben erreichen läßt. Die Ursache, daß Boden III in einem so bedeutend geringern Grade N-assimilierend ist als Boden IV, liegt ganz einfach darin, daß Boden III zu den äußerst wenigen Ackerböden gehört, in denen die Gegenwart von Azotobacter nicht zu allen Zeiten des Jahres nachzuweisen war. Während des ganzen Sommers kam dieser Mikroorganismus in den Mannitkolben gar nicht vor, aber weit im Spätherbst und während des Winters begann er aufzutreten, jedoch keineswegs kräftig, sondern nur in der Form dünner, fragmentarischer Häutchen. Während des ganzen Sommers hingegen kam in den mit diesem Boden geimpften Mannitkolben eine sehr kräftige Buttersäuregärung zu stande, wobei die Schaumschicht auf der Oberfläche sich oft bis zu einer Höhe von 3—4 cm erhob. Es zeigte sich, daß der Bodenschlamm dieser Kolben große Mengen einer Buttersäurebacterie enthielt, die nach ihrem morphologischen Charakter mit Clostridium Pasteurianum vollkommen übereinstimmte, die aber, wie sich bei näherer Untersuchung ergab, dem von Haselhoff und Bredemann beschriebenen Cloridium a sehr nahe stand. Ohne Zweifel ist indessen die N-Assimilation, welche in allen Fällen in diesen Kolben stattfand, dieser anaëroben Buttersäurebakterie zuzuschreiben. Löhnis sagt allerdings, daß, wie er gefunden hat, es oft schwierig ist, in den Sommermonaten Azotobacter sogar in den Böden nachzuweisen, in denen sich dasselbe beweislich vorfindet, und dies kann ich insofern bestätigen, als es sich gezeigt hat, daß während der wärmsten Sommermonate das Azotobacter-Häutchen beträchtlich längere Zeit braucht, um sich auf der Oberfläche der Lösung zu bilden, nämlich etwa 7—9 Tage, als unter den gewöhnlichen Verhältnissen, bei welchen nur 3—5 Tage erforderlich sind; jedoch kann dieser Umstand nicht die gänzliche Abwesenheit von Azotobacter in Boden III während des Sommers erklären, denn alle andern Böden, die ich im Sommer untersucht habe, ergaben kräftige Azotobacter-Häutchen, wenn auch, worauf oben hingewiesen wurde, erst nach etwas längerer Zeit. So ergab Boden IV bei allen Versuchen kräftige Häutchen, und die N-Assimilation ist auch hier mehr als doppelt so kräftig als bei Boden III.

Der niedrigste Zahlenwert für die N-Assimilation, den ich bei meinen Versuchen gefunden habe, war 8,8, während der höchste 51,8 mg betrug, was also einen sehr bedeutenden Unterschied ausmacht.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Versuche haben also erwiesen, daß die Remysche Methode, in gewissen Einzelheiten modifiziert, verwendbare Resultate gibt, sofern ihr Wert als Methode in Betracht kommt. Ob diese Methode auch völlig zweckdienlich ist, wenn es auf die Erforschung verschiedener Böden in bakteriologischer Hinsicht, entweder an sich oder in Verbindung mit Kulturversuchen, ankommt, darüber werden die Versuche hinsichtlich der Anwendung der hier beschriebenen Methodik Auskunft geben, welche später veröffentlicht werden sollen.

Neue Literatur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Oberbibliothekar der Kgl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher usw.

Guénaux, G., Entomologie et Parasitologie agricoles. 2. édition. Paris 1909. 600 p. 400 Fig. 8°.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Stephan, Siegfried, Über eine besonders für Schnittfärbungen brauchbare Modifikation der Pramschen Färbungsmethode. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 51. 1909. Heft 1. p. 94—96.

Todd, David Duke, The bacterial integrity of Celloidin and parchment membranes. Journ. of inf. dis. Vol. 6. 1909. N. 3. p. 369—382.

Wiener, Emile, Appareil portatif pour l'ozonisation de l'eau. Ann. d'byg. publ. et de méd. lég. Sér. 6. T. 12. 1909. p. 5—10. 1 Fig.

Systematik, Morphologie.

Balland et **Droz,** Sur l'Aspergillus niger des tanneries. Journ. de pharm. et de chim. Année 100. 1909. No. 12. p. 573—575.

Börner, Carl, Über Chermesiden. (Zool. Anz. Bd. 34. 1909. No. 16/17. p. 498—511; No. 18/19. p. 554—560.)

Cot, Sur le Lathraea clandestina L., parasite de la vigne dans la Loire — inférieure. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 148. 1909. No. 22. p. 1475—1476.)

Klöcker, Albert, Zwei neue Arten der Familie der Saccharomyceten, besprochen von H. Will. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. 32. 1909. No. 31. p. 386—388.)

Lafont, A., Sur la présence d'un parasite de la classe des flagellés dans le latex de l'Euphorbia pilulifera. (Compt. rend. Sec. biol. T. 66. 1909. No. 22. p. 1011—1013.)

Lindinger, Leonhard, Beiträge zur Kenntnis der Schildläuse und ihrer Verbreitung (Schluß) (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 5. 1909. Heft 5. p. 147—155). 9 Fig.

Magnus, P., Eine neue Ramularia aus Südtirol nebst Bemerkungen über das häufige Auftreten solcher Conidienformen in gebirgigen Gegenden. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Bd. 27. 1909. Heft 1. p. 213—222. 5 Fig.)

Magnus, B., Bemerkungen über einige Gattungen der Melampssoreen. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Bd. 27. 1909. Heft 6. p. 320—327.) 1 Taf.

Reichert, Karl, Über die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 51. 1909. Heft 1. p. 14—94. 30 Fig.)

Sedlaczek, Walter, Die Nonne (Lymantria monacha L.) Studien über ihre Lebensweise und Bekämpfung. (Schluß). (Zentralbl. f. d. ges. Forstwesen. Bd. 35. 1909. Heft 5. p. 193—212; Heft 6. p. 241—261. 1 Fig.)

Taddei, Domenico, Beitrag zum Studium der Morphologie des Streptococcus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 6. p. 561—571. 3 Fig.)

Biologie.

Bayer, Em., Die Zoocecidien der Insel Bornholm. (Verh. d. K. K. zool.-bot. Ges. Wien. Bd. 59. 1909. Heft 3/4. p. 105—120.)

Bertrand, Gabriel, et **Duchacek, F.,** Action du ferment bulgare sur divers sucres. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 148. 1909. No. 20. p. 1338—1340.)

Buchner, Eduard, und **Wüstenfeld, Hermann,** Über Zitronensäuregärung durch Citromyceten. (Biochem. Ztschr. Bd. 17. 1909. Heft 5/6. p. 395—442.)

Guéguen, Fernand, Formes évolutives et caractères spécifiques de l'Aspergillus Fontoynonti. (Compt. rend. Soc. biol. T. 67. 1909. No. 24. p. 10—12.)

Guilliermond, A., Sur la phylogenèse des levures. (Compt. rend. Soc. biol. T. 66. 1909. No. 22. p. 998—1000.)

Löckermann, K., Die Entwicklung der Theorie der alkoholischen Gärung. (Med.-nat. Arch. Bd. 2. 1909. Heft 1. p. 1—14.)

Peklo, Jaroslav, Beiträge zur Lösung des Mykorrhizaproblems. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Bd. 27. 1909. Heft 5. p. 239—247.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Grijns, G., Mag rivierwater gebruckt woorden voor het gieten op de openbare wegen? (Geneesk. Tijdschr. voor Nederl. Indie. Deel 49. 1909. Afl. 2/3. p. 310—318.)

Fleisch.

Conradi, H., Eine neue Methode der bakteriologischen Fleischbeschau. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 19. 1909. Heft 10 p. 341—345.)

Franz, Fr., Das bakteriologische Verhalten des Fischfleisches nach der Zubereitung. (Fisch-Industrie. Jg. 3. 1909. No. 15. p. 227—228.)

Meyer, L., Die Conradische Methode der bakteriologischen Fleischbeschau. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 9. 1909. Heft 10. p. 382—384).

Müller, M., Zur Methodik der bakteriologischen Fleischbeschau. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 9. 1909. Heft 11. p. 377—382.)

Wara, Wilhelm, Untersuchungen über den Nachweis von Konservierungsmitteln im Fleisch. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 9. 1909. Heft 10. p. 384—387.)

Milch, Molkerei.

Anderson, John F., The relative proportion of bacteria in top milk (ceam layer) and bottom milk (skim milk), and its dearing on infant feeding. (Journ. of inf. dis. Vol. 6. 1909. No. 3. p. 392—400.)

Burri, R. und **Thöni, J.,** Über Eigenschaften und Bedeutung der bei der Emmenthalerkäsefabrikation gelegentlich auftretenden schleimbildenden Milchsäurebakterien. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. 19. 1909. No. 31. p. 363—364.)

Burri, R., und **Thöni, J.,** Über Eigenschaften und Bedeutung der bei der Emmenthalerkäsefabrikation gelegentlich auftretenden schleimbildenden Milchsäurebakterien. (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. 19. 1909. No. 32. p. 375—376.)

Kühn, Wilh., Die Milch im Sommer. (Schweizer Bl. f. Gesundheitspfl. Jg. 24. 1909. No. 14. p. 194—196.)

Wein, Weinbereitung.

Delle, Ed., Emploi du formol au cellier. (Moniteur vinicole. Année 54. 1909. No. 52. p. 206.)

Kayser, E., et **Demolon, A.,** Sur la vie de la levure après fermentation. (Rev. de viticult. Année 10. 1909. No. 816. p. 141—148.)

Langlade, M., La fermentation. (Moniteur vinicole Année 54. 1909. No. 52. p. 206.)

Langlade, M., Les consequences d'une fermentation defectueuse. (Moniteur vinicole. Année 54. 1909. No. 53. p. 209—210.)

Langlade, M., La réfrigeration de la vendange. (Moniteur vinicole. Année 54. 1909. No. 54. p. 213—214.)

dal Piaz, Gärung von Anstellmost mittelst Reinzuchthefe. (Allg. Wein-Ztg. Jg. 26. 1909. No. 31. p. 316—317.)

Bier, Bereitung.

Olberg, J., Übergänge beim Würze- und Hopfenkochen und deren Zweck. (Dtsche Brau-Industrie. Jg. 34. 1909. N. 20. p. 307—308.)

Pawlowski, F., Zum Nachweis von Saccharia in Bier. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Jg. 32. 1909. N. 24. p. 281.)

Prior, E., Das Desinfektionsmittel Keramyl. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. 37. 1909. No. 30. p. 354—355.)

Schlönning, H., On Torula in English beer manufacture. (Compt. rend. trav. laborat. Carlsberg. T. 7. 1908. livr. 3.)

Andere Nahrungsmittel.

Kossowicz, Alexander, Zersetzung des französischen Senfs durch eine Essigbakterie. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österr. Jg. 12. 1909. Heft 5. p. 464.)

Abfallstoffe, Desinfektion usw.

Bergonié, J., et **Tribondeau, L.,** Fulguration des microbes. (Compt. rend. soc. biol. T. 66. 1909. N. 14. p. 663—666.)

Bézault, Épuration des eaux résiduaires industrielles. (L'hyg. gén. et appliquée. Année 4. 1909. N. 6. p. 369—362.)

Bocchia, Icilio, Über die desinfizierende Kraft des absoluten Amylalkohols im kochenden und im Dampfzustande. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 4. p. 469 bis 473.)

Boehncke, Ernst, Die Desinfektion mit Formadolbriketts. (Hyg. Rundsch. Jg. 19. 1909. No. 13. p. 773—779.)

Bormans, Alfonso, Sul valore battericida di alcuni nuovi disinfettanti (Desoderol Hermitine e Autan). (Riv. di igiene e di sanità publ. Anno 20. 1909. No. 14. p. 422—436.)

Bormans, Alfonso, Sul valore battericida di alcuni nuovi disinfettanti (Desoderol Hermitine e Autan) (Contin.) (Riv. di igiene e di sanità pubbl. Anno 20. 1909. No. 15. p. 455—463.)

Ferni, Claudio, Über die Einwirkung verschiedener Antiseptica auf die Entwickelung von Schizo-Aktino-Blasto- und Hyphomyceten. (Desinfektion. Jg. 2. 1909. Heft 7. p. 361—382.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Gascard, A., Action de la lumière sur le lait bichromaté. (Compt. rend. de l'acad. des sciences. T. 148. 1909. N. 9. p. 580—582.)

Köhlisch, Unsere Desinfektionsmittel im Felde und deren Anwendung nach den Vorschriften der Kriegssanitätsordnung. (D. prakt. Desinfektor. Jg. 1. 1909. Heft 4.

Kühl, H., Beiträge zur Kenntnis der chemischen Desinfektionsmittel. (Apothekerztg. Jg. 1909. Heft 20. p. 176—177.)

Küster, E., Untersuchungen über Phenostal (Karbolsäuretabletten) und seine keimtötende Wirkung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 2. p. 233—241.)

Laubenheimer, Kurt, Phenol und seine Derivate als Desinfektionsmittel. Habilitationsschrift. Wien. Urban u. Schwarzenberg 1909. 6. 156 p. 8°. 3,60 M.

Lübbert, A., Die Abwasserreinigung im Kleinbetrieb. (Gesundheits-Ingenieur. Jg. 32. 1909. N. 24. p. 398—402. M. Fig.

Nesemann, Das Desinfektionswesen im Landespolizeibezirk Berlin. Jg. 2. 1909. Heft 8. p. 409—444.

Paderi, Cesare, Sull' azione antimicrobica e antitossica dell' argento colloidale elettrico. (Lo Sperimentale = Arch. di biol. norm. e patol. Anno 63. 1909. Fasc. 3. p. 423—432.)

Pitzman, Marsh., Über das desinfizierende Verhalten des Sublimats und Silbernitrats in eiweißhaltigen Flüssigkeiten. (Hyg. Rundsch. Jg. 19. 1909. N. 12. p. 693—699.)

Roos, A., Kresolseife. (Pharmazeut. Ztg. 1909. Heft 12. p. 118.)

Roux, Stérilisation au moyen de l'ozone des eaux filtrées de l'usine de Saint-Maur; augmentation du nombre des bassins filtrants. (Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég. Sér. 4. T. 11. 1909. p. 481—491.)

Schiele, Albert, Abwasserbeseitigung von Gewerben und gewerbereichen Städten unter hauptsächlicher Berücksichtigung Englands. (Mitt. d. K. Prüfungsanst. f. Wasservers. Berlin. Heft 11. 1909. 21 Taf. u. 179 Fig. 932 p.)

Schmatolla, O., Wertbestimmungen von Kresolseifenlösungen. (Chemikerztg. 1909. Heft 31. p. 284.)

The disinfection of sewage. (Engineering Record. Vol. 59. 1909. N. 22. p. 688—689.)

Thomann, Beitrag zur Kenntnis des Desinfektionswertes der drei Kresolisomeren in Gemischen mit Seife. (Schweizer. Wchschr. f. Chem. u. Pharm. 1908. p. 695.)

Thomann, Beitrag zur Wirkung der Kalkdesinfektion. (Schweizer. Wchschr. f. Chem. u. Pharm. 1908. p. 787.)

Travis, W. Oven, Die „Hampton doctrine“ in Beziehung zur Abwasserreinigung (Forts.) (Gesundheits-Ing. Jg. 32. 1909. No. 32. p. 554—556.)

Weiß, L., Über desinfizierende Farbenanstriche. (Desinfektion. Jg. 2. 1909. Heft 6. p. 297—305.)

Inhalt.

Beijerinck, M. W., Bildung und Verbrauch von Stickoxydul durch Bakterien. p. 30.

Fulmek, L., Gossyparia ulmi L. auf Viscum album, L., p. 106.

Klöcker, A., Emil Christian Hansen, p. 1.

Krause, Fritz, Scolecotrichum graminis Fuck. f. Avenae Erikss., p. 102.

Lang, Wilhelm, Die Blüteninfektion beim Weizenflugbrand, p. 86.

Schmidt, Ernst Willy, Oedocephalum glomerulosum Harz, Nebenfruchtform zu Pyronema omphalodes (Bull.) Fckl. p.80.

Stevens, F. L., and **Withers, W. A.,** Studies in soil bacteriology III. Concerning methods for determination of nitrifying and ammonifying powers, p.64.

Thöni, J., und **Allemann, O.,** Über das Vorkommen von gefärbten, makroskopischen Bakterienkolonien in Emmentalerkäsen, p. 8.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Bakteriologisches Laboratorium der Zentralanstalt für landwirtschaftliches Versuchswesen auf Experimentalfältet bei Stockholm.

Barthel, Chr., Bodenbakteriologische Untersuchungen, p. 108.

Neue Literatur, p. 125.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klichees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Abgeschlossen am 18. Oktober 1909.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 25. No. 5|9.

Nachdruck verboten.

Die Geißeln von Spirillum volutans.

[Aus dem Botanischen Institute der Technischen Hochschule in Graz.
Vorstand Prof. Fr. Reinitzer.]

Von Dozenten **Franz Fuhrmann**, Graz.

Mit 4 Tafeln und 2 Abbildungen im Text.

Die Bewegungsorgane von Spirillum volutans bildeten schon des öfteren den Gegenstand zahlreicher Untersuchungen, deren Ergebnisse zu keineswegs einheitlichen Auffassungen über die Natur derselben und über ihren Zusammenhang mit dem Zellinneren führten. Glaubte man doch früher, daß die Bakteriengeißeln starre Anhänge der Bakterienwand seien und überhaupt nicht plasmatischer Natur. Heute leugnet man deren plasmatische Beschaffenheit allerdings nicht, wohl aber spricht man ihnen jeden unmittelbaren Zusammenhang mit dem Zellinnern ab, wenn auch zugegeben wird, daß in bezug auf die Ernährung der Bewegungsorgane ein gewisser Zusammenhang mit dem Ektoplasma bestehen müsse. Es sei hier nur in Kürze auf die wichtigsten Geißeltheorien hingewiesen.

Nach Alfred Fischer[1]) sind die Bakteriengeißeln „den Flimmerhaaren der tierischen Flimmerepithelien, den Cilien der Algen- und Pilzschwärmsporen, den Geißeln der Flagellaten usw.“ ihrer Natur nach gleichzustellen. Durch die ruderartigen Geißelschläge wird der Bakterienkörper in der Flüssigkeit weiterbewegt. „Die Geißeln wachsen aus der Bakterie langsam hervor und können keinesfalls wieder eingezogen werden. Sie stehen mit dem Protoplasmakörper der Bakterie durch feine Löcher der Membran in Verbindung, von dem sie ernährt werden, obgleich sie „als ziemlich selbständige Organe erscheinen“.

Babes[2]) nimmt nach seinen Beobachtungen für die Abgangsstelle und Bildungsstätte der Geißeln eine besondere Membran an. Er unterscheidet sogar bis zu drei Hüllen, deren eine sich bei der Löfflerschen Geißelfärbung stark tingiert, während die äußere zweite auch dabei nur schwach gefärbt wird. Von der Peripherie beider können die Geißeln entspringen, wenn auch die äußerste Hülle als Quellungsprodukt „einer gewöhnlich unsichtbaren Membran der zweiten Hülle“ anzusehen ist. Die unmittelbar auf den zentralen schwach oder stark färbbaren Bakterienanteil folgende wird als erste Hülle bezeichnet.

Nach Zettnow[3]) stellen die Bakteriengeißeln besondere Bildungen des Ektoplasmas vor, das nach den neuesten Angaben von Eisenberg[1]) aus zwei differenten Anteilen besteht. Der letztgenannte Autor äußert sich darüber folgendermaßen auf Seite 469 der oben zitierten Abhandlung: „Wir wollen an dieser Scheidung festhalten und die beiden Gebilde als „Membran“ und als „Rindenschicht“ in Zukunft auseinanderhalten — beide zusammen bilden das Ektoplasma. Es deckt sich also diese Auffassung nicht ganz mit der Zettnows, indem außer dem nicht färbbaren Anteil des Zellleibes auch die äußere Schicht des färbbaren Plasmas mit hineinbezogen wird. Die Zusammenfassung beider zu einem Gebilde rechtfertigt sich wohl durch den Umstand, daß natürlich die Membran als ein Produkt der Rindenschicht aufgefaßt werden muß, folglich beide genetisch zusammengehören.“

---

[1]) Fischer, Alfred, Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903. p. 17, 18. —, —, Untersuchungen über Bakterien. (Jahrb. f. wissensch. Botan. Bd. 27. 1895. p. 1).

[2]) Babes, V., Beobachtungen über die metachromatischen Körperchen, Sporenbildung, Verzweigung, Kolben- und Kapselbildung pathogener Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 20. 1895. p. 429.)

[3]) Zettnow, Über den Bau der großen Spirillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24. 1897. p. 72); Romanowskis Färbung bei Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 30. 1899. p. 1.)

Nach Zettnow (l. c. S. 91/92) findet eine besonders starke Ansammlung von Ektoplasma an den Polen der großen Spirillen statt, während manchmal die „Spirillen von einer den ganzen Zentralkörper spiralig umgebenden Masse eingehüllt“ sind, „welche sich ebenso färben läßt wie die Geißeln.“

Hier muß auch die Anschauung Swellengrebels[2]) Erwähnung finden, nach der die Geißel von Spirillum giganteum (= Spirillum volutans) von einer „calotte périplastique“ ausgeht, in der sich auch ein „granule chromatique“ findet. Weiter sollen nach dem genannten Autor an einem Pol des Bacteriums meistens eine, höchstens zwei Geißeln sitzen, wie die Beobachtung an lebendem Materiale in der Dunkelfeldbeleuchtung ihm ergab.

Angeführt seien noch die Untersuchungen von Ellis[3]) über die Geißeln von Spirillum volutans. Dieser Autor fand bis zu 30 Geißeln an einem Pole in den gefärbten Präparaten. Bezüglich des Zusammenhanges zwischen Cytoplasma und Geißeln äußert sich der genannte Autor dahin, daß man bei geeigneter Färbung ein unmittelbares Ausgehen der Geißeln von dem Protoplasma wahrnehmen kann.

Jüngst erschien eine umfangreiche Geißelstudie von Reichert[4]), die sich insonderheit mit der Sichtbarmachung der Bewegungsorgane und mit der Geißelbewegung als solcher befaßt, daneben aber sehr interessante Aufschlüsse über morphologische Einzelheiten bringt.

Über die Details der genannten Untersuchungen von Reichert wird später noch eingehend berichtet werden.

Wie man aus den wenigen mitgeteilten Auffassungen über die Natur der Geißeln überhaupt und ihre näheren Beziehungen zum Zellinhalt entnehmen kann, herrscht in diesen Fragen gerade so wenig Einhelligkeit, wie in den Kernfragen der Bakterien. Da nun Spirillum volutans wegen seiner Größe und leichten Züchtbarkeit ein bequemes Objekt für Strukturstudien ist und außerdem schon vielfach untersucht wurde, wählte ich es ebenfalls als Untersuchungsobjekt für die vorliegende Arbeit. In dieser habe ich den Versuch gemacht, mit möglichst einwandfreien Untersuchungsmethoden die Resultate der anderen Untersucher einerseits nachzuprüfen, anderseits den bereits bekannten einige neue Tatsachen hinzuzufügen, die vielleicht einiges Licht in die verwandtschaftlichen Beziehungen von Spirillen, Spirochaeten und Flagellaten zu bringen imstande sind. Dazu muß ich nur noch bemerken, daß ich selbst keine vergleichenden Untersuchungen an Spirochaeten und Flagellaten vorgenommen habe, weshalb ich mich bezüglich derselben nur auf die reiche vorliegende Literatur berufe.

---

[1]) Eisenberg, Ph., Studien zur Ektoplasmatheorie. II. (Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Orig. Bd. 49. 1909. p. 465.)

[2]) Swellengrebel, Sur la cytologie comparée des Spirochètes et des Spirilles. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 21. 1907.)

[3]) Ellis, D., Untersuchungen über Sarcina, Streptococcus und Spirillum. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903. p. 1.)

[4]) Reichert, K., Über die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 14.)

Untersuchungstechnik.

Als Ausgangsmaterial diente eine von Král in Prag bezogene Kultur von Spirillum volutans. Für die Untersuchungen wurden sehr verschieden alte Agarkulturen verwendet, die immer bei einer Temperatur von 28° C durch höchstens 48 Stunden gezüchtet worden waren. Als Nähragar wurde eine Mischung verwendet, bestehend aus: Agar 1,5 g, Pferdefleischwasser 100 ccm, Pepton (sicc. Witte) 0,5 g, Chlornatrium 0,5 g, Glycerin 1,5 ccm. Nach vollständiger Lösung wurde so lange Natronlauge zugegeben, bis violettes Lackmuspapier eben deutlich gebläut wurde. Zur Klärung diente eine 5proz. Auflösung von getrocknetem pulverisiertem Hühnereiweiß in Brunnenwasser, von der ca. 3 ccm der angegebenen Nährbodenmenge zugesetzt wurden. Das Wachstum der Spirillen war auf diesem Nährboden ausgezeichnet. Die Kulturen, bei Zimmertemperatur gehalten, erwiesen sich auch sehr lange lebensfähig, da Abimpfungen von 3—4 Monate alten Kulturrasen noch gut angingen.

Die Färbungspräparate wurden nun in sehr verschiedener Weise hergestellt. Von eigentlichen Geißelfärbungen mit vorhergehender Beizung wurde überhaupt abgesehen, da diese groben Eingriffe unter wiederholter Erhitzung und Trocknung der Ausstriche einerseits keine Gewähr einer tadellosen Erhaltung der Inhaltskörper bieten und anderseits stets eine Überfärbung eintritt, die alle feineren Einzelheiten verdeckt.

Vollständig ungefärbte Präparate von lebenden Spirillen wurden daher im Dunkelfeld untersucht. Dazu diente der Reichertsche Spiegelkondensor, der mit den stärkeren Trockenobjektiven sehr kontrastreiche und instruktive Bilder gab. Für diesen Zweck wurden die Spirillen entweder im Kondenswasser oder in Leitungswasser aufgeschwemmt. Von der sehr stark verdünnten Bakterienemulsion wurde ein Tropfen auf einen mit Seifenwasser und Leinenlappen gereinigten Objektträger aus Spiegelglas von der entsprechenden Dicke gebracht, darauf ein in Chromschwefelsäure gereinigtes Deckgläschen gelegt und sofort mit Paraffin umrandet, um ein Austrocknen zu verhindern. Um ruhende Spirillen zu beobachten, wurde ein dünner Ausstrich rasch getrocknet, ohne weitere Fixierung neuerlich mit einem Tröpfchen Wasser benetzt, und wie angegeben eingeschlossen. Als Lichtquelle zur Beobachtung diente entweder eine Drägersche Kalklichtlampe oder Sonnenlicht, das von einem Uhrwerkheliostaten auf den Mikroskopspiegel geworfen wurde.

An abgetöteten Spirillen lassen sich mit Lösungen von Jod in Jodkalium die Geißeln prachtvoll darstellen, ohne daß der Zusammenhang derselben mit dem Zellinnern in irgend einer Weise verändert wird. Übrigens berichtet schon Sorokin[1]), daß er beim Töten des Spirillum endoparagogicum durch schwache Jodlösungen bald an einem Pole, bald an beiden Wimpern wahrnehmen konnte. Seiner Zeichnung entsprechend handelt es sich um ein zu einem unregelmäßig gewundenen Faden verklebtes, polar sitzendes Geißelbüschel. Ich verwendete die von Arthur Meyer angegebene konzentrierte Jod-Jodkaliumlösung, enthaltend 3 g Jod, 3 Jodkalium in 20 ccm Wasser. Die Präparate werden folgendermaßen hergestellt: Auf einen reinen, fettfreien Objektträger kommt ein kleines Tröpfchen der dünnen Spirillenemulsion und dazu ein ebenso großer Tropfen der genannten Jod-Jodkaliumlösung. Dann legt man ein Deckgläschen vorsichtig auf. Sobald sich darunter die Flüssigkeit gleichmäßig verteilt hat, umrandet man das Deckglas ohne Druck mit Paraffin. Mit der Immersion bei geringer Ablendung wird dann beobachtet. Mit dieser Methode konnte ich sehr schön den Zusammenhang zwischen Geißelbasis und Zellinnern untersuchen. Außerdem gelangen dabei noch eine Reihe von Inhaltskörpern zur Beobachtung.

---

[1]) Sorokin, N., Noch einmal über Spirillum endoparagogicum. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. p. 123.)

Mitunter wurde auch ein Ausstrich auf einem reinen Objektträger gemacht, erst nach dem Trocknen desselben ein Tropfen der oben genannten Jodlösung zugesetzt und umrandet. Auch so erhält man sehr brauchbare Geißelpräparate.

Für manche Zwecke recht brauchbar ist die Geißeldarstellungsmethode nach Reichert[1]) mit einer 5proz. Hämateinlösung in Wasser. Das Geißelbüschel sieht dabei sehr dick und etwas grob aus. Es findet eben eine starke Anlagerung des Farbstoffes sowohl an den Geißeln als auch an der Zellwand statt, was natürlich die Erkennung feinerer Details erschwert.

Für die Untersuchung der Zellstrukturen fanden auch gewöhnliche Trockenpräparate Verwendung, die in der Weise hergestellt wurden, daß eine wässrige Bakterienemulsion auf gut gereinigten Objektträgern in dünner Schicht ausgebreitet und bei 50° C rasch getrocknet wird. Zur Färbung der nach dem Trocknen in der Flamme fixierten Präparate diente meistens eine 1proz. Lösung von Methylenblau B extra (Merck) in dest. Wasser. Im allgemeinen wählte ich eine lange Färbungsdauer und differenzierte dann in einer sehr verdünnten Essigsäure (0,1—0,5proz.), wie es auch Růžička[2]) angibt. Vielfach wurde zur Darstellung der chromatischen Elemente (Chromatin) auch Methylgrün verwendet, das dieselben ausgezeichnet zur Ansicht bringt. Ich verwendete eine 1proz. Lösung von Methylgrün 00 kryst. Grübler in 1proz. wässriger Essigsäurelösung. Da bekanntlich das Methylgrün immer etwas Methylviolett enthält, wurde das letztere mit Chloroform entfernt. Dementsprechend wurde die Herstellung dieser Färbeflotte folgendermaßen ausgeführt:

1 g Methylgrün 00 kryst. Grübler wurde in 50 ccm dest. Wasser gelöst und dann in einen Scheidetrichter dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die erhaltene reine Methylgrünlösung wurde sodann mit der gleichen Menge einer 2proz. wässrigen Essigsäurelösung gemischt. Die Färbedauer betrug durchwegs 10 Minuten; dann wurde mit Wasser sehr gut gewaschen und entweder nach dem Trocknen des Präparates in Damarharzlösung eingeschlossen oder in Glycerin untersucht. Die Haltbarkeit der Präparate ist eine sehr beschränkte.

Zur Färbung diente auch polychromes Methylenblau und das von Giemsa angegebene Farbgemisch von Azur II-Eosin, Azur II, Glycerin und Methylalkohol, fertig bezogen von Grübler in Leipzig. Beim Gebrauch wurde letztere Farblösung im Verhältnis von 3 Tropfen zu 5 ccm Wasser verdünnt und darin ¼—½ Stunde gefärbt.

---

[1]) Reichert, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 41.

[2]) Růžička, Vl., Über die Bedeutung der färbbaren Körnchen des Bakterieninhaltes. (Arch. f. Hyg. Bd. 46. 1903. p. 340.)

Sehr gute Ergebnisse erhielt ich auch mit der Eisenlackfärbung nach Benda. Als Beize diente eine Mischung von 1 Teil Liquor ferri sulfurici oxydati Pharm. Germ. II mit 2 Teilen dest. Wasser. Die Beizdauer betrug 24 Stunden. Dann wurde durch 5 Minuten in fließendem Wasser gespült und hierauf in einer 1proz. Lösung von kryst. Hämatoxylin (Grübler) durch 3—4 Stunden gefärbt. Zur Differenzierung diente die auf das hundertfache verdünnte Beize.

Die genannten Färbungen wurden ebenfalls in der gleichen Weise mit fixiertem Materiale ausgeführt.

Da eine öftere Eintrocknung und Wiederquellung unmöglich eine tadellose Erhaltung der feinsten Verbindungen einzelner Zellinhaltsstoffe herbeiführen kann, wurden die genannten Trockenpräparate nur zur Feststellung grober Strukturmerkmale gebraucht. Für die feineren Untersuchungen kamen Präparate in Verwendung, die genau mit Fixierungsflüssigkeiten behandelt wurden, wie tierische oder pflanzliche Gewebe.

Als Fixierungsflüssigkeit diente absoluter Alkohol in großem Überschuß dann, wenn mit dem Objekt sogenannte färberische Reaktionen ausgeführt wurden, wie z. B. der Chromatinnachweis mit sauerer Methylgrünlösung, da durch andere Vorbehandlungen bezw. Fixierungen (ausgenommen Hitze und Aussalzung) eine tiefgreifende Veränderung der Eiweißkörper hinsichtlich ihrer chemischen Natur eintritt, die das Verhalten derselben gegen die Farbstoffe ebenfalls beträchtlich ändert (vgl. dazu Fischer)[1].

Für Präparate zur Untersuchung der feinsten Strukturverhältnisse wurden als Fixierungsflüssigkeiten verwendet eine konzentrierte Lösung von Quecksilberchlorid in 0,5proz. Natriumchloridlösung (15° C), dann das schwache Flemmingsche Gemisch, enthaltend:

1proz. Osmiumsäurelösung	10 ccm
1proz. Essigsäurelösung	10 ccm
1proz. Chromsäurelösung	25 ccm
Wasser	55 ccm

und das Hermannsche Gemisch, bestehend aus:

1proz. Platinchloridlösung	15 ccm
2proz. Osmiumsäurelösung	4 ccm
Eisessig	1 ccm

In allen diesen Fixierungslösungen verblieben die Bakterien 4—12 Stunden. 4 Stunden genügen vollständig zu einer tadellosen Konservierung der Strukturen. Bei der Sublimatlösung konnte schon von 30 Minuten ab kein Unterschied in der Erhaltung der Objekte wahrgenommen werden, weshalb die späteren Sublimatfixierungen immer nur 30 Minuten währten.

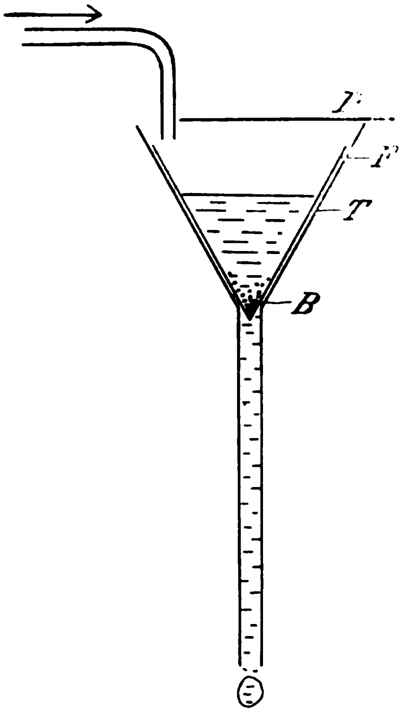
Aus der Quecksilberchloridlösung kamen die Bakterien sofort in 70proz. Alkohol, dem bis zur Gelbfärbung eine alkoholische Jodlösung zugesetzt worden war. Der 70proz. Alkohol wird 2stündig so lange gewechselt, bis er gelb gefärbt bleibt, also kein Sublimat mehr in den Zellen ist. Dann werden die Bakterien in 80proz. Alkohol gebracht, worin sie mindestens 24 Stunden verweilen; endlich kommen sie in 95proz., in dem sie mindestens 4—6 Tage bleiben. Selbstverständlich können sie darin beliebig lange aufbewahrt werden.

---

[1] Fischer, **Fixierung usw. des Protoplasma. Jena 1899.**

Die im Flemmingschen oder Hermannschen Gemisch fixierten Bakterien werden nach der Fixierung in fließendem Leitungswasser durch 24 Stunden gewaschen und dann in steigenden Alkohol (bei 50 Proz. beginnend) gebracht.

Um eine möglichst schonende Behandlung der Spirillen durchzuführen, wurde der Agarrasen derselben in dem Kondenswasser des Röhrchens durch fortwährendes Neigen aufgeschwemmt. Die so entstandene dicke Bakterienemulsion sammelte sich am Grunde in kurzer Zeit an und wurde dann mit einem ausgezogenen Glasrohr aufgesaugt und in die Fixierungsflüssigkeit, die in eine niedere Eprouvette eingefüllt worden war, langsam eintropfen gelassen. Auf ca. ½ ccm Emulsion wurden 5—10 ccm Fixierungsgemisch genommen. Nach der Fixierung wurde kurz zentrifugiert, abgegossen und dann bei Quecksilberfixierungen sofort 70proz. Jod-Alkohol aufgegossen und wie oben angegeben weiter verfahren. Die nach der Fixierung zu waschenden Bakterien wurden ebenfalls zentrifugiert und dann in Wasser aufgenommen. Hierauf wurden sie auf ein kleines Papierfilter gebracht und auf diesem durch fortwährendes Zutropfen von Leitungswasser gewaschen. Meine Vorrichtung war sehr einfach und ist in der beistehenden Figur 1 im Schnitt wiedergegeben. Der Trichter T sitzt in einem kleinen Dreifuß (in der Zeichnung weggelassen). Im Trichter ist das Filter F, auf dem sich die fixierten Bakterien B befinden. Dieselben sind infolge der Fixierung zu größeren und kleineren Krümeln und Flocken vereinigt, die nicht durchs Filter gehen. Der Trichter ist mit der Glasplatte D zugedeckt. In der Richtung des Pfeiles tropft aus der Wasserleitung soviel Wasser zu, als beim Trichter abtropft. Dadurch ist ein gleichmäßiger Wasserstand im Trichter bedingt, der sich durch viele Stunden in derselben Höhe erhielt. Man hat nur nötig, in der ersten Viertelstunde öfter nachzusehen um den Zufluß zu regeln. Nach dem Auswaschen bringt man mit Hilfe des feinen Strahles einer Spritzflasche die Bakterien in eine kurze Eprouvette, zentrifugiert und füllt mit 50-proz. Alkohol auf. Dann wird durch weiteres Zentrifugieren und Auffüllen von immer stärkerem Alkohol in der angegebenen Weise entwässert.



Figur 1.

Die so fixierten und behandelten Bakterien werden nun nicht zu Ausstrichpräparaten verarbeitet, sondern zu Schnittpräparaten. Zu dem Ende kommen sie in zweimal gewechselten absoluten Alkohol, dann in Xylol, endlich in Xylol-Paraffin bei 40° C und dann in reines Paraffin von 52° Schmelzpunkt. Die Einbettung geschieht in kleinen Glasröhrchen, die auf einer Seite mit einem Korkstopfen verschlossen sind. Im letzten Paraffin genügt ein Aufenthalt von 10 Minuten im Thermostaten von 56—58° C. Sehr gute Dienste leistet hier die Einbettung im Vakuum, da man dadurch die Zeit des Aufenthaltes in der Wärme bedeutend abkürzt. In diesem Falle bringt man die Bakterien vom Xylol sofort in das Paraffin von 52° Schmelzpunkt, in dem sie nun verbleiben können, da bei der nun folgenden Luftverdünnung das restliche Xylol rasch weggeht.

Die Paraffinblöcke werden zu möglichst dünnen Schnitten (2—4 μ) verarbeitet. Die erhaltenen Schnitte werden mit Eiweißglyzerin-Wasser aufgeklebt und können nach Entfernung des Paraffins beliebig weiter gefärbt und behandelt werden, nachdem sie durch Alkohol hindurch ins Wasser gebracht worden sind. Nach der Färbung kommen sie durch steigenden Alkohol in Xylol und werden schließlich in Dammarharz-Xylol eingeschlossen.

Die so behandelten Bakterien wurden während aller Prozeduren feucht gehalten und geben außerordentlich reine Bilder der Strukturen.

Zur Kontrolle der etwa durch die Paraffineinbettung hervorgebrachten Veränderungen habe ich auch Ausstriche, die nicht getrocknet wurden, mit denselben Fixierungsflüssigkeiten behandelt und dann natürlich ohne Einbettung färben können. Solche Ausstriche, die die Schnittpräparate vollends ersetzen und viel rascher und einfacher herzustellen sind, werden auf folgende Weise angefertigt:

Ein Tropfen Agarkondenswasser (auch Brunnenwasser) wird auf einen vollständig fettfreien und reinen Objektträger gebracht und dann von der Kondenswasseraufschwemmung der Kultur zugesetzt, bis eine deutliche Trübung entsteht. Nunmehr wird mit einer Platinnadel der Tropfen rasch in dünner Schicht ausgebreitet und sofort auf den noch nassen Ausstrich das gewünschte Fixierungsgemisch im Überschuß aufgetropft. Dann kommt der so beschickte Objektträger in eine feuchte Kammer, um jede Konzentrationsänderung zu vermeiden. Nach der entsprechenden Fixierungszeit werden die Objektträger genau weiterbehandelt, wie die zur Paraffineinbettung vorbereiteten Bakterien. Sie kommen auch durch steigenden Alkohol in starken, in dem sie mindestens einige Tage verweilen. Dann werden sie durch die Alkohol in Wasser gebracht, gefärbt und schließlich wieder langsam entwässert, in Xylol gegeben und endlich in Harz eingeschlossen. Auch hier ist jede Austrocknung peinlichst vermieden.

A. Anzahl der Geißeln.

Die Zahl der Einzelgeißeln, die zu einem Büschel oder Zopf vereinigt an den Polen von Spirillum volutans sitzen, wird von den Untersuchern verschieden angegeben. So berichtet Ellis[1]) über „ungefähr 30 zu einem endständigen Büschel vereinigte Geißeln“, wie seine gefärbten Präparate unseres Spirills erkennen lassen.

Reichert[2]) findet ebenfalls eine größere Anzahl von Geißelfäden an den Enden von Spirillum volutans, die zu endständigen Zöpfen vereint besonders bei raschem Abtöten der Bakterien in elektrolytfreien Aufschwemmungsflüssigkeiten entfaltet werden. Nach seinen Angaben schwankt die Anzahl der Geißeln zwischen 20 und 30.

Wesentlich weniger Geißelfäden hat Fischer[3]) gefunden, indem er im allgemeinen für Cladothrixschwärmer und Spirillen 8—12 polare Geißeln angibt.

---

[1]) Ellis, Untersuchungen über Sarcina, Streptococcus und Spirillum. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903. p. 94.)

[2]) Reichert, Über die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. p. 65.)

[3]) Fischer, Alfred, Untersuchungen über Bakterien. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 27. 1895. p. 86.)

Kutscher[1]) endlich schreibt über die Begeißelung: „Es ließen sich an Spirillum volutans bis acht zu einem endständigen Büschel vereinigte, lange, leichtgewellte Geißeln sichtbar machen“.

Nach Swellengrebel[1]) endlich soll in Übereinstimmung mit Cohn Spirillum giganteum (= Spirillum volutans) meistens nur eine, höchstens 2 Geißeln besitzen. Er erhärtet seine Befunde durch direkte Beobachtungen an lebendem Material im Dunkelfelde: „Man kann so sehr deutlich sehen, daß jede Zelle nur eine oder höchstens zwei Geißeln besitzt.“

Unter gewöhnlichen Bedingungen an lebenden Spirillen läßt sich die Anzahl der Geißeln aber überhaupt nicht mit Hilfe der Dunkelfeldbeleuchtung feststellen, da nach meinen eigenen Beobachtungen und nach den Untersuchungen von Reichert in diesem Falle immer nur ein Geißelzopf oder zwei bis drei dünnere Geißelbüschel zur Ansicht gelangen. Mit Reicherts Versuchen übereinstimmend konnte ich feststellen, daß eine Entfaltung der genannten Geißelbüschel während der Bewegung überhaupt nicht stattfand und eine solche nur dann geschieht, wenn Ruhe eintritt und die Zelle geschädigt wird. Die Einzelgeißeln können aber wenigstens nach meinen Untersuchungen auch im Dunkelfelde nicht ohne weiteres in Erscheinung treten und wahrgenommen werden. Nur in gebeizten und besonders gefärbten Präparaten werden sie zur Darstellung gebracht.

Die Zählung an solchen Geißelpräparaten ergab für Spirillum volutans 15—25 Einzelgeißeln, die von einem meistens etwas seitlich vom Pole gelegenen Punkte entspringen. Zu diesen großen Zahlen gelangt man nur an besonders schön entfalteten Geißelbüscheln, die in den nach den Vorschriften von Zettnow und anderen hergestellten Präparaten nur selten zu finden sind. Gewöhnlich sieht man 2—4 kleinere Büschel, deren Enden aber aufgefranst sind.

B. Länge und Dicke der Geißeln.

Es kann als feststehende Tatsache gelten, daß die Geißeln der Bakterien durch eine Reihe von Einflüssen in ihrem Längenwachstum gehindert oder gefördert werden. Ein und dieselbe Bakterienart besitzt auf verschiedenen Nährsubstraten gewachsen, verschieden lange Geißeln. Bei Spirillum volutans zeigt sich diese Erscheinung beispielsweise in der Agarkultur. Die auf dem schräg erstarrten Nähragar gewachsenen Spirillen besitzen kürzere Geißeln als diejenigen Zellen, die sich in Kondenswasser entwickelt haben. Etwas ausgeglichen wird dieser Unterschied im weiteren Verlaufe des Wachstums, da sehr alte Kulturen im allgemeinen langbegeißelte Formen aufweisen, einerlei ob vom feuchteren oder trockeneren Teil des Nährsubstrates stammend.

Über die Länge der die Geißelbündel zusammensetzenden Einzelgeißeln gehen die Meinungen der Untersucher auseinander. Alfred Fischer

---

[1]) **Kutscher**, Die Vibrionen- und Spirillenflora der Düngerjauche. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 20. 1895. p. 58.)

[2]) **Swellengrebel**, N. H., Neuere Untersuchungen über die vergleichende Cytologie der Spirillen und Spirochaeten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. p. 542.)

(l. c.) unterscheidet im Geißelbüschel von Spirillum Undula längere Hauptgeißeln und kürzere Nebengeißeln, ohne daß in dieser Hinsicht irgend welche bestimmten Zahlenverhältnisse obwalten.

Nach Reichert ist die absolute Länge der Einzelgeißeln eines Büschels immer gleich, während die Büschel sehr verschieden lang sind.

An den gefärbten Geißelpräparaten ist es meist schwierig, über die Länge der Einzelgeißeln überhaupt etwas bestimmtes auszusagen, da es in der Tat den Anschein hat, als würden die Büschel von verschieden langen Geißeln zusammengesetzt. Diesen Eindruck bringen auch die Photogramme von solchen Präparaten hervor, in denen man sehr häufig ein sich distal verjüngendes Geißelbüschel an der Zelle sehen kann. Einen wesentlich anderen machen dagegen diejenigen Bilder, welche man gewinnt, wenn man nach der auf Seite 132 beschriebenen Methode mit Jod-Jodkaliumlösung ein Präparat herstellt. Man sieht an einzelnen Zellen dann sehr deutlich einen einzigen Geißelzopf, dessen Dicke fast bis an die Spitze überall gleich ist, wie es uns Figur 8 und 10 der Tafel I wiedergibt. Auch diejenigen Zellen, bei denen der Geißelzopf in zwei oder mehrere dünne Zöpfe geteilt ist, herrschen die gleichen Verhältnisse, sofern keine weitere Entfaltung gegen die Geißelspitze zu erfolgt ist. Unsere Abbildung 9 der Tafel I zeigt eine Zelle, deren Geißelzopf in zwei Büschel geteilt ist, die überall gleich dick sind und nur gegen das distale Ende zu etwas, aber kaum merklich, verjüngt erscheinen. Wo eine stärkere Entfaltung eingetreten ist, wie bei dem Spirillum der Figur 12 (Tafel I), dort ist natürlich die Dicke der einzelnen sekundären Büschel, die eben noch zu sehen sind, eine sehr variable. Obgleich hier der rechte Pol des Spirillums sehr verschieden lange Büschel zu tragen scheint, möchte ich daraus dennoch nicht auf eine verschiedene Länge der diese Büschel zusammensetzenden Einzelgeißeln schließen, weil die anscheinend erfolgte weitgehende Entfaltung die Wahrnehmung der Einzelgeißeln hindert, obwohl vielleicht sie in ihrer ganzen Länge tatsächlich vorhanden sind.

Noch schöner als in den genannten Präparaten, sieht man nach dem Härten in Formol die gleich dicken Geißelzöpfe an den Spirillen, wie es Figur 48 und 49 der Tafel I zeigt. Die hier abgebildeten Zellen stammen aus einer durch 24 Stunden bei 28° C und ebenso lange bei 16° C gezüchteten Agarkultur, die in Brunnenwasser aufgeschwemmt wurde. Zu einem Tröpfchen der frischen Aufschwemmung kam ein gleich großer Tropfen Formol (enthaltend 40 Proz. Formaldehyd). Nach einigen Minuten wurde ebensoviel Jod-Jodkaliumlösung zugesetzt. Die Geißelbüschel erscheinen zwar dünner, aber von der Abgangsstelle bis zum Ende gleichmäßig dick. Für die gleiche Länge der ein Büschel zusammensetzenden Einzelgeißeln sprechen noch zahlreiche andere Zeichnungen der beigegebenen Tafeln.

Die Bestimmung der wahren Länge der Geißelbüschel stößt nun auf manche Schwierigkeiten, da eine unmittelbare Messung meistens undurchführbar ist. Auf rechnerischem Wege hat Reichert Längenangaben erhalten. Danach findet man in frischen Kulturen Geißeln in einer Länge bis 24 μ, während die durchschnittliche Länge der Mehrzahl der Geißelzöpfe 12—18 μ beträgt. Besonders in älteren flüssigen Kulturen findet man nicht selten Geißeln von 72 μ Länge.

Wenn man Spirillen in einer 1-proz. Morphiumlösung aufschwemmt, erhält man an zahlreichen Zellen eine mehr oder minder vollständige Streckung der Geißelbüschel oder zumindest eine sehr starke Abflachung der Krümmungen der Geißeln, so daß sie wie geknickt aussehen.

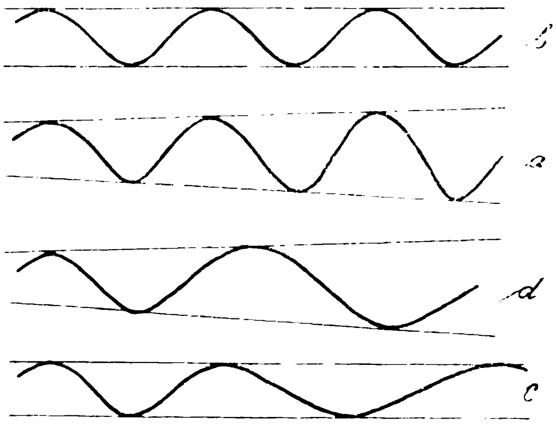
Beim Messen der annähernd zwischen den Abknickungsstellen gerade verlaufenden Geißelstücke kommt man zu ähnlichen Zahlen, wie sie Reichert angibt. Dabei ist nur zu beachten, daß sich am Ende der morphinisierten Geißeln häufig ein kleinstes Knöpfchen ausbildet, das jedenfalls auf eine Verkürzung der Geißel hindeutet, wie später noch genauer ausgeführt werden wird.

Eine exakte Bestimmung der Dicke der Geißeln ist aus den oben angegebenen Gründen sozusagen undurchführbar. Migula[1]) schätzt dieselbe auf etwa 0,05 μ. Wir können uns einigermaßen rechnerisch darüber orientieren, wenn wir die durchschnittliche Dicke der Büschel oder Zöpfe durch die mittlere Geißelanzahl dividieren. Reichert (l. c.) hat für Spirillum volutans Dickenberechnungen der Geißeln ausgeführt und kommt unter Annahme von 25 Geißeln und einer Dicke der Zöpfe von 0,25 μ ebenfalls zu dem Querdurchmesser von 0,05 μ für die Einzelgeißel. Dabei ist ihm allerdings ein Rechenfehler unterlaufen; denn, angenommen, die Dicke des Zopfes ist richtig, ergibt sich nach seinen Zahlen ein Durchmesser der Einzelgeißel von **0,01** μ. Der scheint mir zu gering, weshalb ich glaube, daß Reichert den Querdurchmesser des Zopfes zu klein angenommen hat.

An Dickenmessungen von Zöpfen in den Jodpräparaten und unter der Annahme von 15—25 Einzelgeißeln erhalte ich einen wesentlich geringeren Durchmesser für die einzelne Geißel. Derselbe beträgt 0,02 bis 0,03 μ. Lege ich aber der Rechnung Zahlen zugrunde, die Messungen von Präparaten mit Hämateinzusatz nach Reichert ergaben, so ist der Querdurchmesser etwa 0,05 bis 0,06 μ, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß bei dieser Methode eine verhältnismäßig starke Farbauflagerung erfolgt.

C. Gestalt der Geißeln.

Der Geißelzopf stellt in der Bewegung eine Schraube mit rechtsläufigen Gängen vor, wie es auch Reichert gefunden hat. Nach der Schnelligkeit der Bewegung ist die Höhe der Schraubengänge verschieden. Sie werden im allgemeinen um so höher, je langsamer die Bewegung erfolgt. In den meisten Fällen handelt es sich nicht um eine auf einen Zylinder aufgewickelte Schraube, sondern um eine konische in dem Sinne, daß sich die Radien von der Basis zur Spitze vergrößern. Dementsprechend erhält man die Bilder der auf die Ebene projizierten Geißelzöpfe. Schematisch sind in der beistehenden Abbildung 2 die Formen wiedergegeben, wie sie sich in die Ebene projeziert gedacht, darstellen.



Figur 2.

In a sehen wir einen Geißelzopf, dessen Schraubenumgänge von der Basis gegen die Spitze immer größer werdende Radien aufweisen, also so gedacht werden müssen, als seien sie auf einem Kegel aufgewickelt, dessen

---

[1]) Migula, System der Bakterien. Jena 1897. p. 115.

Basis die Geißelspitze schneidet. Bei b ist die Schraube um einen Zylinder gelegt, weshalb die Halbmesser der einzelnen Gänge immer gleich sind. Beide Arten von Windungen sind aber noch dadurch kompliziert, daß eine Verschiedenheit in den Ganghöhen eintreten kann, die man sogar ziemlich oft beobachten kann. In der Figur 2 sind solche Ganghöhenunterschiede in c und d wiedergegeben. Die genannten Formen wechseln an ein und demselben Spirillum während der Bewegung sehr häufig.

Sobald die Bewegung eingestellt wird, ohne daß es zum Tode oder einer tiefgreifenden Veränderung der Zelle kommt, erhalten wir Geißelformen, die wir als Ruhegestalt der Geißeln bezeichnen können oder mit Reichert auch als „normale Geißelform“, da sie sich immer wieder im Ruhestadium dauernd einstellt. Bei derselben beträgt die Ganghöhe einer Windung nach Reichert 7,5 μ und der Durchmesser des Zylinders, um den die Schraube gewickelt ist, 3 μ. Dem entspricht ein Steigerungswinkel von etwa 51°. Nach meinen Untersuchungen ist die Ruhegestalt nicht einer auf einen Zylinder gewundenen Schraube entsprechend, sondern einer leicht konischen Schraube vergleichbar, deren Ganghöhe von der Basis zur Spitze zunimmt. Diese Form habe ich am häufigsten in den Präparaten aus jungen Kulturen angetroffen, während die Schraubenformen mit zahlreicheren Gängen auf zylindrischer Grundlage meist an Spirillen älterer Kulturen gefunden werden. In den Figuren 5, 7 und 10 der Tafel II sind die Ruhegestalten der Geißelzöpfe wiedergegeben, die ich besonders in jüngeren Kulturen im Dunkelfelde beobachten konnte. Auch das Photogramm 3 der Tafel III zeigt uns die Geißeln in Ruhegestalt nach der Behandlung mit Jod.

Gewöhnlich findet ein plötzlicher Übergang von der Ruhegestalt in die Bewegungsgestalt statt. Mit einem Ruck werden die Geißeln anscheinend verkürzt, in Wahrheit der Steigerungswinkel verkleinert. Dann setzt die Drehbewegung und Ortsveränderung ein. Viel leichter zu beobachten sind die Geißelformen, die sich einstellen beim Übergang von der Bewegung zur Ruhe. Hier handelt es sich häufig um einen langsamen Übergang, um ein allmähliches Abnehmen der Bewegung. Die immer langsamer schlagenden Geißelzöpfe bauchen sich mehr und mehr aus, was sich in den entsprechenden Formen kundtut.

Bei der Narkose der Zelle[1]) oder ihrem Tode treten wieder andere Erscheinungen der Geißelform in den Vordergrund, die sich aber kaum in ein bestimmtes Schema bringen lassen. Am ehesten könnte man sagen, daß in diesen Fällen im allgemeinen eine sehr starke Abflachung der Schraubengänge einzutreten pflegt, die bis zu einer vollständigen Streckung des Geißelzopfes führen oder unregelmäßige Knickungen in seinem Verlauf zur Folge haben kann. Dabei treten aber immer auch schon gewisse strukturelle Veränderungen in der Geißel auf. Gleichzeitig findet in diesen Fällen auch eine vollständige oder teilweise Entfaltung der Geißelzöpfe statt.

---

[1]) Es handelt sich hier um Zellen, die in eine 1proz. Morphiumlösung gebracht worden sind, bezw. deren Aufschwemmung mit der gleichen Menge einer solchen Lösung gemischt worden ist. Es wird die Bewegung verlangsamt und steht endlich still. Die Zellen werden erst nach einigen Stunden getötet. Läßt man die Tropfen mit dem Morphium sofort eintrocknen, so werden nur wenige Zellen getötet, denn von dem nach einigen Stunden wieder angefeuchteten Tropfen kann man sehr reichlich anwachsende Kulturen durch Abimpfung erhalten. Da durch das Morphium nur eine vorübergehende Sistierung der Bewegung hervorgebracht wird, bezeichnete ich derartig behandelte Zellen als narkotisiert. Durch rasches Auswaschen der so hergestellten Trockenpräparate entfernt man das Morphium und macht dann durch Jodzusatz die Geißeln sichtbar, wobei natürlich eine Abtötung des Materiales eintritt. Noch schöner sind die Präparate, wenn man die narkotisierten Zellen unmittelbar nach dem Eintrocknen des Tropfens in Alkohol fixiert, indem man den Objektträger durch eine halbe Stunde in absoluten Alkohol bringt. Dann führt man dieselben durch schwächere Alkohole in Wasser über und untersucht in Jod-Jodkalium. Über die Einwirkung verschiedener Neurotica auf die Bewegung und Bewegungsorgane von Spirillum volutans wird eine spätere Veröffentlichung berichten.

Narkoseformen sehen wir in den Figuren 22, 23, 24, 26, 31, 38, 39 und 41 der Tafel I, bei denen noch keine tiefgreifendere Veränderung der Struktur zu bemerken ist, wie wir sie bei den Spirillen der Abbildungen 25, 27, 28, 35 usw. derselben Tafel sehen können. Solche Formen mit minder großen Schädigungen zeigen uns auch die Photogramme 1 und 2 der Tafel III und 8 der Tafel IV.

Ganz ähnlich geformt sind die Geißeln im Beginne des Absterbens. In Figur 1 und 3 der Tafel II sehen wir Zellen, deren Geißeln sich im Beginne des Unterganges befinden. Sie sind fast gerade gestreckt, noch zu einem Zopfe vereinigt und zeigen bereits eine Art körnigen Zerfalles, auf den ich später noch zurückkommen werde.

Unter gewissen Bedingungen findet ein Abfallen von Geißeln statt, die sich dann zu freien größeren Geißelzöpfen vereinigen können. Die Form dieser Zopfgebilde ist sehr verschieden. Man sieht oft schon ohne irgend welche Präparation dieselben im lebenden Präparat. Sehr schön kommen sie in der Jodlösung zur Anschauung. In den Figuren 44 und 45 der I. Tafel sind Zöpfe abgebildet. In der erstgenannten Abbildung sehen wir an dem verklebten ringförmigen Gebilde noch drei Spirillen mit ihren Geißelzöpfen anhängen. In Figur 45 ist ein Geißelzopf abgebildet, dessen Ende eine sehr feine Auffaserung darstellt. Dieser könnte allerdings auch von einer einzigen Zelle kommen, doch ist es wegen seiner Größe wahrscheinlicher, daß er von den Geißeln mehrerer Bakterien gebildet worden war.

Bei dieser Gelegenheit soll auch ein Vorschlag für den Gebrauch des Wortes „Geißelzopf“ gemacht werden. Ohne auf die zahlreichen Beobachtungen von Geißelzöpfen seit dem Auffinden derselben durch Löffler am Rauschbrandbacillus näher einzugehen, kann man sagen, daß man unter „Geißelzöpfen“ verschieden geformte Verflechtungen und Konglomerate von abgeworfenen Geißelfäden versteht, die mitunter oder besser sehr oft äußerst regulär gebaute, wellige Formen aufweisen. Ich verweise hier nur auf die schönen Photogramme von Geißelzöpfen, die uns Zettnow[1]) in letzter Zeit gebracht hat. Nach den neuesten Untersuchungen von Reichert (l. c.) werden bei der Bewegung der Bakterien die Einzelgeißeln zu „Zöpfen“ vereinigt, entsprechend der Benennung dieses Autors.

Die mit dem gleichen Namen belegten Gebilde sind aber wesentlich verschieden, da die Geißelzöpfe der älteren Autoren abgestorbene und früher oder später zerfallende, von der Zelle getrennte Teile waren, während nach Reichert die Geißelzöpfe lebende zum Zwecke der Bewegung der Zelle vereinigte Geißelfäden sind, die mit der Zelle in Zusammenhang bleiben und entfaltet und wieder gebildet werden können. Zu Verflechtungen und Verfilzungen kommt es in letzterem Falle überhaupt nicht, vielmehr nur zu einer Aneinanderlagerung. Wenn wir trotzdem auch hier von Geißelzopf sprechen wollen, so schlage ich vor, die Geißelzöpfe im Sinne Reicherts als „primäre Geißelzöpfe" zu bezeichnen und ihnen die abgestorbenen Geißelzöpfe als „sekundäre Geißelzöpfe" gegenüberzustellen.

---

[1]) **Zettnow, Über Geißelzöpfe, Spirochaete polyspira und Planosarcina Schaudinni. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 58. 1909. p. 386.)**

D. Der feinere Bau des primären Geißelzopfes.

Wie schon mitgeteilt, sind die primären Geißelzöpfe aus einer Anzahl feinster Geißelfäden zusammengesetzt. Letztere legen sich gleichmäßig aneinander ohne eine besondere Verkittung oder Verklebung. Eine besonders starke Verflechtung ist ebenfalls nicht festzustellen.

An den Geißelzöpfen kann man einen distalen und einen proximalen Teil erkennen. Der distale Teil umfaßt den ganzen frei schwingenden Geißelzopf von der Zellmembran bis zur Spitze, die meistens etwas verjüngt erscheint. Dementsprechend unterscheiden wir an der Einzelgeißel ebenfalls diesen Abschnitt. Der proximale Abschnitt des Geißel fadens oder auch des Zopfes ist derjenige Teil, der die Zellwand durchsetzt und im Innern der Zelle eine kleine Anschwellung besitzt.

1. Der distale Geißelteil.

Weder an den primären Zöpfen noch an den sie zusammensetzenden Einzelgeißeln ist normalerweise eine besondere Struktur zwischen der Abgangsstelle und dem Ende zu beobachten. Erst auf Zusatz von Reagentien kann eine besondere Struktur zur Ansicht gebracht werden, die aber höchstwahrscheinlich nicht derjenigen der lebensfrischen Geißel entspricht. Ich meine hier das Auftreten von körnigen Gebilden im Verlaufe des Geißelfadens oder Zopfes. Ähnliche Erscheinungen konnte schon Künstler[1]) bei Flagellaten feststellen und späterhin in neuerer Zeit auch Bütschli[2]) an den Bewegungsorganen von Spirillen. Auch Alfred Fischer konnte Knopfbildungen an den Geißelstielen von Polytoma uvella beobachten, die er auch abbildet. Das gleiche gilt für Bodo, dessen Peitschengeißeln ebenfalls verschieden zahlreiche Knopfbildungen aufweisen. Diese Erscheinungen konnte Fischer auch dadurch künstlich hervorrufen, daß er die Tröpfchen mit den genannten Flagellaten sehr langsam eintrocknen ließ. Überdies verwendete er die ursprüngliche Faulflüssigkeit zur Herstellung der Tropfen, die dementsprechend gewiß sehr reich an den verschiedensten gelösten Substanzen waren. Beim langsamen Absterben der Flagellaten zeigten sich also die körnigen Strukturen an den Stielen der Peitschengeißeln. In den späteren „Untersuchungen über Bakterien" konnte Fischer (l. c.) den körnigen Zerfall der Geißeln einer typhusähnlichen Wasserbakterie beobachten und abbilden (Tafel III, Fig. 19). Nach den neuesten Untersuchungen von Reichert (l. c.) kommt den freien Säuren eine besondere Wirkung auf die Knopfbildung zu. Auf Seite 31 der angezogenen Arbeit schreibt Reichert: „Bezüglich der Einwirkung der freien Säuren auf die Geißeln, sei dies nun in ihren verdünnten Lösungen oder als hydrolytisch abgespaltene Säure in den Lösungen der Salze schwacher Basen, wie essigsaure Tonerde, Aluminiumsulfat, Alaun, Chromisulfat, Eisenoxydulammonsulfat, Eisenchlorid, Aluminiumchlorid,

---

[1]) Künstler, Bull. soc. zoolog. de Françe. T. 7. 1882. p. 20.

[2]) Bütschli, O., Bemerkungen über Cyanophyceen und Bacteriaceen. (Arch. f. Protistenk. Bd. 1. 1902. p. 41.)

[3]) Fischer, Alfred, Über die Geißeln einiger Flagellaten. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 26. 1894. p. 187.)

Goldchlorid, Kupferchlorid, usw., sei bemerkt, daß in diesen sauren Lösungen neben einer ausgiebigen Beizwirkung stets eine gewisse Struktur der Geißeln hervortritt. In gewissen optimalen Konzentrationen, so bei 0,025-proz. $Al_2(SO_4)_3$, in 0,1-proz. $FeCl_3$, in 0,025-proz. Oxalsäure, in 0,01-proz. HNO_3 kommen die Garben mit 5—7 Geißeln zum Vorschein. Die Geißeln erscheinen wie von kleinen Körnchen oder Kügelchen besetzt, welche sich perlschnurartig aneinanderreihen." Die Kügelchen können sich auch zu einem einzigen Knopf vereinigen, der schließlich langsam bis zur Zelle kommt, worauf auch er verschwindet.

Babes (l. c.) berichtet ebenfalls über eine körnige Struktur der Geißeln von Bacillus typhosus und einer ihm ähnlichen Wasserbakterie: „Die Geißeln setzen nur mit einem verdünnten Ende, oft mit einem stärker gefärbten Punkt an der Peripherie der Stäbchen ein. Im Verlaufe derselben erkennt man oft im Innern des welligen Fadens und manchmal in ziemlich regelmäßigen Distanzen etwas stärker gefärbte Körner oder selbst etwas größere Körner mit hellem ungefärbten Zentrum."

Ob es sich bei dieser Körnchendarstellung um die Wiedergabe einer bestimmten primären Struktur handelt oder nicht, wurde von Reichert nicht entschieden. Er drückt sich darüber sehr vorsichtig aus: „Auf jeden Fall wäre es denkbar, daß die Geißel aus differenzierten Elementen besteht, die von den Säuren in verschiedener Weise beeinflußt werden." Fischer drückt sich darüber sehr eindeutig aus und erklärt die Körnchen für Kunstprodukte, zurückzuführen auf unvollständige Quellungserscheinungen an den Geißeln.

Untersucht man die primären Geißelzöpfe in den Jod-Jodkaliumpräparaten, die man frisch in der angegebenen Weise von jungen Kulturen hergestellt hat, findet man nichts von Körnchenbildungen. Die dickeren oder dünneren, zwei- oder mehrgeteilten Zöpfe erscheinen als vollständig homogene, gelbgefärbte Masse, in die kein einziges Korn eingelagert ist. Diese Beschreibung gilt für die meisten Zellen in Kulturen bis zu 48 Stunden bei 28° C. In den Figuren 8, 9, 10 der Tafel I sind solche Zellen wiedergegeben, die erst an einem Pole einen oder zwei Geißelzöpfe tragen, die keine weitere Struktur aufweisen. Auch im Photogramm 3 der Tafel III sehen wir die Geißelzöpfe ohne irgend eine körnige Struktur. Ab und zu findet man dann in den Präparaten von jungen Kulturen eine stärkere Entfaltung der Zöpfe, sodaß die Geißelzöpfe eine größere Dicke bei weniger scharfer Kontur aufweisen. Unsere Abbildung 11 der I. Tafel zeigt diese Verhältnisse. Diese Entfaltung geht besonders an älteren Zellen oft noch weiter und führt zur Bildung mehrerer zarter Geißelzöpfe, wie wir solche an der Zelle der Figur 12 (Tafel I) sehen. Auch die Geißeln der Zellen aus älteren Kulturen zeigen in der Mehrzahl der Fälle keine körnige Beschaffenheit. Selbst abgerissene oder abgeworfene Geißeln in alten Kulturen erweisen sich völlig homogen, abgesehen von der knopfartigen Anschwellung an der Basis des Zopfes, auf die wir später noch näher einzugehen haben. Die Zellen, welche in den Figuren 1, 2 und 3 der Tafel I wiedergegeben sind, stammen aus fünf Wochen alten Agarkulturen und zeigen nach der Jodbehandlung nicht die geringste körnige Struktur.

Nimmt man dagegen die Geißeldarstellung mit Hämatein nach Reichert vor, dann erhält man sofort die körnige Struktur in schönster Form. In Figur 53 der Tafel II ist eine Stelle aus einem solchen Präparat gezeichnet. Es handelt sich um Spirillen aus einer 72stündigen bei 28° C

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

gewachsenen Agarkultur. Wir können hier alle Stadien der Körnerbildung wahrnehmen. Die obere linke Zelle besitzt noch einen im Verlauf homogenen aber am Ende mit einem Knöpfchen versehenen Geißelzopf, während die mittlere Spirille eine gröbere Körnelung desselben aufweist. Die beiden unteren Zellen tragen ebenfalls verschieden fein gekörnte primäre Geißelzöpfe. Dazu möchte ich nur noch bemerken, daß sich in der nächsten Umgebung der Zellen ebenfalls gekörnte Niederschläge befinden, von denen ich aber nicht anzugeben vermag, ob sie von zerfallenden Geißeln oder von Verunreinigungen aus dem Nährsubstrat stammen. Letzteres erscheint mir wahrscheinlicher.

Sehr schön läßt sich durch Morphinisieren der Zellen eine körnige Struktur der Geißelzöpfe hervorrufen. Diese Struktur erstreckt sich aber keineswegs auf alle Geißelzöpfe, denn einige davon zeigen sich noch vollständig körnerlos. Man findet im allgemeinen eine um so größere Körnelung, je langsamer der Eintrocknungsprozeß in der Morphinlösung erfolgt oder je konzentriertere Morphiumlösungen man verwendet, was ja auf dasselbe herauskommt. In einem Präparat aus einer fünftägigen Agarkultur, deren Aufschwemmung mit gleichen Teilen einer 1-proz. Morphinlösung gemischt und davon ein kleines Tröpfchen rasch ausgestrichen und getrocknet wurde, ergibt die verschiedenen Stadien der Körnchenbildung nur an verhältnismäßig wenigen Geißeln. Wird aber ein großer Tropfen dieser Aufschwemmung langsam eingetrocknet, dann kann es tatsächlich bis zu einem kompletten Zerfall der Geißeln kommen, sodaß man überhaupt davon bei der nachfolgenden Jodbehandlung nichts mehr zu Gesicht bekommt. Unsere Figuren 28, 30, 32, 40, der Tafel I sind aus einem Präparate entnommen, das von einer fünftägigen Agarkultur in der angegebenen Weise durch rasches Eintrocknen eines kleinen Tröpfchens gewonnen wurde. Darnach wurde das Morphin durch Wasserwaschung entfernt und sofort die konzentrierte Jod-Jodkaliumlösung zugegeben. Die genannten Figuren zeigen uns alle Stadien der Knöpfchenbildung mit Verkürzung des Zopfes bis zu dem Augenblick, wo sich an dem Zellpole nur mehr ein größerer Knopf bildet und von einer Geißel nichts mehr zu sehen ist. Auch die Photogramme 1 und 2 der Tafel III lassen verschiedene Stadien der Knopfbildung erkennen. Im erstgenannten Lichtbild, das einem raschgetrockneten Morphinpräparat entspricht, sehen wir eine wenig ausgebildete Körnelung der Geißeln. Im langsam getrockneten Präparat, aus dem eine Stelle unser zweites Photogramm wiedergibt, sind die Geißeln sehr stark und grob gekörnt. Ähnliche Verhältnisse können wir auch in ein und demselben Präparate finden, da ja ein Ausstrich nicht überall gleichzeitig auftrocknet, sondern der Trocknungsprozeß vom Rand zur Mitte fortschreitet. Die Randpartien des Präparates enthalten dementsprechend die am wenigsten gekörnten Geißeln. Die Photogramme 8 und 9 der Tafel IV sind von einem Präparate gemacht. Fig. 8 entspricht den mittleren Teilen des Präparates, während Figur 9 Randpartien desselben darstellt.

½—1-proz. Morphinlösungen üben noch einen Einfluß auf die Geißeln und auf die Zellinhaltskörper selbst aus. Sie bewirken neben dem allmählichen Stillstande der Geißeln, bezw. der Bewegungen, noch eine geringe Quellung der Bewegungsorgane und der formierten Zellinhaltskörper. Die nachherige Jodbehandlung bringt deshalb die Geißeln und auch letztere nicht mehr in der Schärfe zur Anschauung, wie ohne vorausgehende Morphinisierung. Diese Quellung scheint mit einer eigen-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

tümlichen Veränderung der Geißeloberfläche einherzugehen, die darin ihren Ausdruck findet, daß die Geißeln stark verkleben. Ihre Oberfläche bekommt eine sozusagen klebrige Beschaffenheit. Auf diese Weise erklären sich auch die Bildungen, die in den Figuren 4, 5 und 6 der Tafel IV dargestellt sind. Es handelt sich hier um sehr innige Verklebungen und Verschlingungen von primären Geißelzöpfen zu kreisförmigen großen Ringen, an denen sehr häufig noch die Bakterien hängen, wie es die Photogramme gut erkennen lassen. Auch Figur 44 der Tafel I zeigt uns eine solche Geißelverflechtung, wo die primären Zöpfe durch Verklebung einen Ring bilden. Figur 45 der Tafel I stellt ebenfalls einen durch Verklebung entstandenen sekundären Geißelzopf vor, dessen eines Ende noch gut entfaltet ist und teilweise eine feinkörnige Struktur aufweist.

Schön gedrehte und gleichmäßig gewundene sekundäre Geißelzöpfe fehlen hier fast vollständig. Diese Geißelzöpfe weisen auch insofern einen wesentlich anderen Bau auf, als es hier zu weniger auffälligen Verquellungen und Verklebungen kommt, als bei denjenigen, die bei der Morphinisierung der Zellen entstehen. Außerdem sind erstere auch von anders geformten primären Geißelzöpfen und Einzelgeißeln aufgebaut. Wenn man auch mit Zettnow keineswegs die Ursache für diese Bildungen angeben kann, so steht soviel fest, daß sie sich vorwiegend in älteren Kulturen finden. Das Photogramm 2 der Tafel IV zeigt uns einen fast rechtwinkelig geknickten sehr langen Geißelzopf aus einer 14tägigen Agarkultur unseres Spirillums bei 500facher Vergrößerung. Wir sehen hier einen äußerst regelmäßigen Bau dieses Gebildes, der nur durch die Aneinanderfügung sehr gleichmäßiger Elemente zu erklären ist. Wir sehen auch im Photogramm 3 dieser Tafel einen kleinen sekundären Geißelzopf, der außerordentlich gleichmäßige Windungen aufweist. Ungefähr die gleichen Windungen finden wir bei den primären Geißelzöpfen im Stadium voller Bewegung. Unwillkürlich kommt man bei diesen Vergleichen auf die Idee, daß es sich bei den sekundären Geißelzöpfen um eine Verflechtung von mechanisch abgerissenen in voller Tätigkeit gewesener primärer Geißelzöpfe handelt, die höchstwahrscheinlich erst nach ihrer Verfilzung von den Zellen abgerissen worden waren. Darnach ist die Vorstellung des allmählichen Entstehens dieser Geißelzöpfe überall dort, wo sehr viele Spirillen in einem kleinen Raum dichtgedrängt nebeneinander sind, gerechtfertigt. Wenn wir noch bedenken, daß die primären Geißelzöpfe unmittelbar nach ihrer Trennung von der Zelle jedenfalls noch kurze Zeit Bewegungen auszuführen vermögen, so wird die innige Verflechtung noch verständlicher. Übrigens hat schon Alfred Fischer[1]) und vor ihm Sakharoff[2]) die Zopfbildung auf ähnliche Vorgänge zurückgeführt und auf die unmittelbare Beteiligung der noch geißeltragenden gewiesen. Fischer (l. c.) konnte überdies bei Bacillus subtilis Bakterien hin durch einen 4—5-proz. Zusatz von Ammoniumchlorid zur Nährlösung eine Förderung der Zopfbildung erreichen, die er in erster Linie auf die dabei auftretenden eigenartigen Hautbildungen zurückführt. Die gewaltige Vergrößerung der sekundären Geißelzöpfe führt Fischer ebenfalls auf die Fähigkeit der Geißeln zurück, nach der Ablösung von der

---

[1]) Fischer, Alfred, Untersuchungen über Bakterien. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 27. 1895. p. 116.)

[2]) Sakharoff, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 7. 1893. p. 550.

Zelle noch ½—3 Minuten eigenbeweglich zu sein, wie es nach zahlreichen Beobachtungen für die Flagellaten als erwiesen gelten kann.

Eine körnige Struktur können wir aber auch durch Abtöten der Spirillen in langsam steigender Wärme hervorrufen. Gelegentlich der Untersuchung von Spirillenaufschwemmungen im Dunkelfelde unter Verwendung von Kalklicht oder Sonnenlicht konnte ich wahrnehmen, daß mit zunehmender Erhitzung des Präparates ein Absterben der Spirillen stattfindet. Dabei zerfallen nicht nur die Zellen körnig, sondern schon vorher bemerkt man ein Dunklerwerden der Geißelzöpfe, die allmählich eine gestreckte Form annehmen. Gleichzeitig treten helleuchtende Körnchen im peripheren Teile des Zopfes auf, meistens zuerst ein Korn am Geißelende, wie es Figur 3 der Tafel II zeigt. Dann bilden sich zahlreichere Körnchen unter Verkürzung des Geißelzopfes, die schließlich zu einem der Zelle immer näher rückenden größeren Knopf verschmelzen. Es erweckt den Anschein, als ziehe sich die Geißelsubstanz zu diesen Knöpfen zusammen. Der Zerfall der Geißeln beim langsamen Absterben scheint demnach in der Weise zu erfolgen, daß zuerst eine mehr oder weniger starke Streckung der Zöpfe erfolgt, worauf sich zuerst ein Korn am distalen Ende ausbildet, das die Geißelsubstanz in sich aufnehmend sich vergrößert und langsam an die Zellwand heranrückt. Während dieses sich allmählich abspielenden Vorganges bilden sich meistens im Verlauf des noch intakten Geißelzopfes weitere Körnchen aus, die ebenfalls an die Geißelbasis rücken und schließlich mit dem ersten Knöpfchen verschmelzen. So erklären sich vielleicht diejenigen Bilder, die sich ziemlich häufig an absterbenden Spirillen finden und von denen eines in Figur 2 der Tafel II wiedergegeben ist. Hier sehen wir ein basales und ein distales Korn; zwischen beiden verläuft der noch intakte Geißelzopf.

Aus den bisher beschriebenen Erscheinungen bei der Morphinisierung und beim Absterben der primären Geißelzöpfe geht hervor, daß die vielfach beschriebene körnige Struktur dem lebenden Geißelplasma nicht zukommt und aus ihr auch nicht auf eine besondere morphologische Differenzierung desselben geschlossen werden darf. Trotzdem soll nicht in Abrede gestellt werden, daß ganz gut zwei chemisch oder physikalisch verschiedene Substanzen den Geißelkörper aufbauen, von denen die eine rascher einer Lysis anheimfällt als die andere, weshalb erstere sich in Form kleiner Kügelchen auf letzterer ansammelt. Durch die beschriebenen Beobachtungen gewinnt diese Annahme sehr an Boden, denn es wäre doch sehr auffallend, daß derartige Kügelchen aus einer chemisch oder physikalisch einheitlichen Substanz sich absondern sollten.

Um die Löslichkeit der Geißeln von Spirillum volutans festzustellen, wurden teils ohne, teils mit Morphinzusatz Ausstriche angefertigt, die nach dem Trocknen mit einer konzentrierten Natriumkarbonatlösung oder mit verdünnten Säuren und Verdauungsgemischen behandelt wurden. Nach der Wasserspülung wurde in starker Jod-Jodkalium-Lösung untersucht.

Diese Versuche ergaben, daß die eben getrockneten Geißelfäden von einer konzentrierten Sodalösung in keiner Weise angegriffen oder gelöst oder auch nur zum Quellen gebracht werden. In den Abbildungen 14 und 15 der Tafel I sind Zellen wiedergegeben, die aus einer 48stündigen

Kultur stammen und in Brunnenwasser aufgeschwemmt wurden. Der davon hergestellte aber getrocknete Ausstrich wurde 5 Minuten mit einer konzentrierten Natriumkarbonatlösung behandelt und dann tüchtig mit Wasser abgespült. Zur Untersuchung wurde in der starken Jod-Jodkaliumlösung eingeschlossen. Man sieht die Geißeln schön erhalten, entweder zu einem einzigen primären Zopf vereinigt, oder in mehrere Büschel aufgelöst (Fig. 15). Keine Beobachtung verleitet zur Annahme, daß durch diese Behandlung irgend ein Bestandteil des Zopfes weggelöst werde.

Wenn auch eine Morphinisierung der Zellen vorausgeschickt worden war, so fand man nach der Sodabehandlung keine stärkeren Veränderungen, als sie sonst im Morphinpräparat festzustellen sind. Unsere Figuren 20, 21, und 23 (Tafel I) geben Zellen wieder, die aus einem Präparate einer 24-stündigen Agarkultur stammen, die in 1-proz. Morphinlösung aufgeschwemmt und nach dem raschen Trocknen mit einer konzentrierten Sodalösung behandelt worden waren. Wir können hier nirgends eine Lösung oder Verquellung der knopfartigen Gebilde beobachten.

Bezüglich der Einwirkung von freien Säuren verweise ich auf die Ausführungen von Reichert und auf Seite 141 meiner Abhandlung.

2. Der proximale Geißelteil.

Einleitend habe ich in Kürze diejenigen Anschauungen über den Bau der Bakterienzelle, insonderheit Spirillen, wiedergegeben, die die Auffassung der Spirillengeißel wesentlich beeinflussen. Es ist dies in erster Linie die Ektoplasmatheorie Zettnows, welche teilweise modifiziert auch Eisenberg (l. c.) durch seine Versuche an Bakterien erhärtet zu haben meint. Darnach würde die Zellwand samt den ihr anliegenden (stärker färbbaren) Teilen des Protoplasmas als sogenanntes Ektoplasma aufzufassen sein. Nach Zettnow haben wir aber in der Bakteriengeißel eine Ektoplasmabildung vor uns, ausgehend von den äußersten Partien desselben. Daß Zettnow seinem Ektoplasma, wenigstens soweit es sich um Spirillen und den Bacillus granulosus handelt, den Charakter einer festeren Zellhaut abspricht, geht aus folgender Stelle in seiner Abhandlung „über den Bau der großen Spirillen“ hervor: „Ich habe eifrigst, jedoch stets vergebens nach einer solchen Zellhaut bei den Spirillen und dem Bacillus granulosus gesucht; alle meine Beobachtungen haben mich im Gegenteil zu der Ansicht geführt, daß ein Gebilde von derartiger Festigkeit, daß der Inhalt sich von ihm abtrennen kann, bei diesen Bakterien nicht vorhanden ist.“ Nach Zettnow soll auch durch Plasmolyse nichts von einer Zellmembran sichtbar werden. Nach weiteren Untersuchungen von Zettnow soll das Ektoplasma bei Spirillen hauptsächlich die polaren Abschnitte desselben ausmachen und eine Art Polkappe bilden, von der die Geißeln abgehen. Bei den verschiedenen Spirillenarten ist letztere Bildung sehr verschieden, bei einigen besonders gut sichtbar, bei anderen schlechter. Mitunter umhüllt das Ektoplasma auch in spiraliger Form den Zentralkörper (= Entoplasma) der Spirillen.

Zu ähnlichen Ergebnissen kommt Swellengrebel, (l. c.) wie ich bereits einleitend bemerkte. Nach ihm geht die Geißel von einer periplastischen (= ectoplasmatischen) Kappe aus, in der sich noch ein chromatisches Korn befindet. Von dem sogenannten periplastischen Anhang können wir hier absehen.

Neuerlich berichtet Reichert (l. c.) über den Ursprungsteil (Basal-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

körper) der Geißelzöpfe von Spirillen, worauf ich noch näher zurückkomme.

Aus all diesen divergenten Befunden ersehen wir, daß eine Einigung über die Fragen des Zusammenhanges der Geißeln mit dem Körper und ihre Zugehörigkeit zu irgend einem Zellkomplex oder einem bestimmten Zellinhaltskörper bei den Bakteriologen noch nicht besteht.

Da von verschiedenen Seiten ein inniger Zusammenhang zwischen Geißel und Ektoplasma und Ektoplasma und Zellhülle angenommen wird, habe ich eine Reihe von Versuchen angestellt, um eine sichere Entscheidung der Frage herbeizuführen: Hat Spirillum volutans eine ausgesprochene Zellmembran von bestimmter Beschaffenheit oder nicht, oder vertritt ihre Stelle eine besondere Plasmadifferenzierung (Pellicula), wie sie bei tierischen Protozoën sich ausbildet.

Der erste Versuch bestand darin, Spirillen kräftig zu plasmolysieren, was unschwer gelingt. Sehr kräftige Plasmolyse tritt sofort ein auf Zusatz konzentrierter Essigsäure. Dabei können wir in Bezug auf die Zusammenziehung des Protoplasten drei Fälle unterscheiden. Erstens zieht sich der Zellinhalt von den Polen gleichmäßig zurück, so daß keine Teilung desselben in mehreren Klumpen auftritt. Im zweiten Fall findet eine Halbierung desselben statt und beide Teile rücken an die Zellpole heran. Dies gilt besonders für Zellen, die sich im Teilungsstadium befinden. Die beiden Teile sind entweder gleichmäßig gerundet oder ungleichmäßig klumpig gebaut. Im dritten Fall kann eine Aufteilung der Inhaltsmassen mit Schrumpfung derselben in mehrere Abschnitte erfolgen. Der erste wie dritte Fall tritt bei langsam einsetzender Plasmolyse ein, wie auch richtig Swellengrebel bemerkt. In den Abbildungen der Figur 12, Tafel II, sind die Verhältnisse wiedergegeben, wie sie sich im zweiten Fall bei der Plasmolyse mit Essigsäure zeigen. Hier sieht man bei der nachfolgenden Jodbehandlung sehr deutlich eine feine Zellwand, die den fast leeren Zwischenraum zwischen den zusammengezogenen Plasmateilen umhüllt. Dieselbe behält entweder die Gestalt der ursprünglichen Zelle bei oder sie fällt auch zusammen, wie es in der angezogenen Figur die untere Abbildung zeigt. Es besitzt diese Abbildung sehr große Ähnlichkeit mit der Figur 10, der Tafel XI, der ersten Arbeit Swellengrebels[1]) und Figur 8 und 9 der zweiten Publikation[2]) desselben Autors. Der genannte Autor bezieht diese Erscheinungen auf den Teilungsprozeß, dem mein Befund natürlich keineswegs entgegensteht, da durch die Plasmolyse nur allzuleicht eine schon präformierte Teilung des Inhalts mechanisch rasch durchgeführt wird. Da bei der Teilung von Spirillum volutans nach den Untersuchungen des genannten Autors und Ellis keine primäre Zwischenwand ausgebildet wird, so müssen die abgeschnürten Teile vor dem gänzlichen Zerreißen in zwei Tochterindividuen neu behäutet werden und die alte, noch beide Teile verbindende Haut wird veröden. Vielleicht erklärt diese Überlegung die geringe Festigkeit der Wand gerade an der Durchschnürungsstelle bei der Teilung, so daß sie bei der Plasmolyse stark zusammenfällt. Aus den bei der Plasmolyse sich ergebenden Beobachtungen geht die Existenz einer sogar ziemlich steifen Zellhaut ohne weiteres hervor. Noch deutlicher sind aber Bilder, die Ausstriche von vollständig vertrockneten Kulturen ergaben. Ich habe eine viele Monate alte Kultur abgekratzt, in sehr wenig Wasser aufgeschwemmt, sehr rasch getrocknet und mit Karbolfuchsin gefärbt. In dem stark mit Niederschlägen verunreinigten Präparat habe ich Bilder beobachtet, die in der Figur 13 der Tafel II festgehalten sind. Man sieht hier in unzweideutiger Weise leere Zellwände, die immer am Pol geöffnet sind. Außerdem beobachtet man Zellhäute, in deren polarer Öffnung noch sehr geschrumpfte und zusammengebackene Zellkörper stecken. Manche Häute zeigen auch schon Zerfallserscheinungen und besitzen mehr verwaschene Konturen. Ein längeres Spirillum weist den der Wand einseitig anliegenden total zusammengeschrumpften Körper auf, während an der anderen Seite deutlich die Zellwand sichtbar ist.

---

[1]) Swellengrebel, N. H., Sur la cytologie comparée des Spirochètes et des Spirilles. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 21. 1897.)

[2]) Neuere Untersuchungen über die vergleichende Cytologie der Spirillen und Spirochaeten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. p. 529.)

Wenn wir hier noch auf die Befunde vom Vorhandensein einer Zellwand hinweisen, die Alfred Fischer und Ellis beigebracht haben, so muß entgegen Zettnow als Tatsache hingestellt werden, daß Spirillum volutans eine besondere, ziemlich feste Zellwand besitzt. Dieselbe ist als Produkt der Zelle aufzufassen und bleibt in den Kulturen meistens sehr lange morphologisch differenziert erhalten.

Unter sehr ungünstigen Ernährungsbedingungen oder bei Temperaturen über 37° C findet eine sehr beträchtliche Schädigung der Zellhaut statt, weshalb es unter den genannten Einflüssen zur Bildung nackter Formen kommt, wie ich solche samt ihrer Entstehung in den Figuren 14—28 der Tafel II abgebildet und in den Photogrammen 4 und 5 der Tafel III wiedergegeben habe. Gerade beim Entstehen dieser nackten Formen können wir mit großer Deutlichkeit ebenfalls an vielen Stellen die Zellwand ohne weiteres in Jodpräparaten sowohl als auch in mit Eisenhämatoxylin gefärbten Präparaten beobachten, wenn man die Präparate langsam eintrocknen läßt. Es tritt dann eine sehr starke Präparationsplasmolyse auf.

Die früher aufgeworfene Frage ist demnach dahin zu beantworten, daß Spirillum volutans normaler Weise eine ausgesprochene Zellhaut besitzt, von der sich der Protoplast zurückziehen oder aus der er heraustreten kann. Mitunter tritt auch gleichzeitig ein Schwund dieser Zellmembran ein. In den beiden letzteren Fällen kommt es zur Bildung nackter Formen, die dann eine kugelige Gestalt annehmen. Es scheint also tatsächlich von der Zelle eine besondere Membran abgeschieden zu werden, die unter Umständen wieder zum Schwund gebracht oder verlassen wird. Das Schicksal dieser nackten Formen kann hier unerörtert bleiben.

Diese nackten Formen sind aber für die Frage des Zusammenhanges der Geißel mit dem Zellinhalt deshalb von größter Bedeutung, da an ihnen unter Umständen auch die Geißeln erhalten bleiben. Diese Beobachtung ist wohl der stärkste Beweis dafür, daß die Geißel ein Produkt des Zellinhaltes ist und mit ihr in einem direkten Zusammenhang steht.

Es erhebt sich nun sofort die weitere Frage: Worin besteht dieser Zusammenhang und mit welchen Inhaltskörpern steht die Geißel, bezw. der primäre Geißelzopf in unmittelbarer Verbindung. Haben ja die zahlreichen

Untersuchungen an begeißelten Protozoën klar ergeben, daß die Bewegungsorgane derselben nicht eine unmittelbare Fortsetzung des Zellprotoplasmas sind, sondern mit ganz bestimmten Kernen in Verbindung stehen und sozusagen als Kernprodukt aufzufassen sind.

Eingehende Untersuchungen an Spirillum volutans führten mich zur Sonderung des gesamten Geißelzopfes in einen distalen Abschnitt und in einen proximalen Teil, der sich wesentlich von ersterem unterscheidet und deutlich zur Beobachtung kommt.

Wir bemerken nämlich am Basalteil oder proximalen Geißelabschnitt einen stärker färbbaren Anteil in Form eines größeren oder kleineren Knöpfchens und einen feinen Verbindungsfaden, der die Zellwand unmittelbar durchdringt und sich als distaler Geißelabschnitt fortsetzt. Das stärker färbbare Korn einschließlich des die Zellwand durchsetzenden Geißelteiles wollen wir als proximalen Geißelteil zusammenfassen.

Einen sehr guten Einblick in diese Verhältnisse erhalten wir durch Präparate, die die Bakterien in starker Jod-Jodkaliumlösung aufgeschwemmt enthalten. Zellen aus derartigen Präparaten sind auf der Tafel I in größerer Menge abgebildet. Sehr schön zu sehen ist der proximale Geißelteil in den Figuren 6 und 46 der I. Tafel, und Figur 45 der Tafel II. Hierzu diente eine 24stündige Kultur als Material. In der erstgenannten Figur haben wir eine junge Zelle abgebildet, deren gleichmäßig gewundener Geißelzopf die Zellwand durchsetzt und in ein rundes Korn mündet, das bei der Jodbehandlung dunkelgelb gefärbt wird und von der Grundsubstanz sich sehr gut abhebt. In der anderen Figur (6) sehen wir eine dunklere Polkuppe, von der anscheinend 2 Geißelzöpfe abgehen. Ich möchte dazu nur bemerken, daß der dünnere Geißelzopf höchst wahrscheinlich nicht dieser Zelle angehört, da an dem Zellpol sich sonst immer nur ein Abgangspunkt für das Geißelbündel feststellen ließ. Die genannte Polkappe entpuppt sich bei günstiger Lagerung der Zelle meistens als aus einem Korn und einer sehr verschieden großen Menge stärker tingibler Substanz bestehend. Letztere ist in vermehrter Menge vorhanden, wenn das Korn sehr klein ist. Bei größerem Korn ist sie nur als winziger Hautbelag am Pole nachzuweisen. In sehr homogenen Zellen, wie eine in Fig. 2 der Tafel I wiedergegeben ist, macht es Schwierigkeiten, das Korn aufzufinden. Hier befindet sich in der Polgegend eine größere Schichte färbbarer Substanz. Wir können dieselben Verhältnisse aber auch in den mit verschieden starker Lösung von Natriumkarbonat und Säuren behandelten Zellen beobachten. Auch eine Morphinisierung derselben ändert an dem Aussehen nichts. Dieses Ursprungskorn des Geißelzopfes bleibt auch erhalten, wenn die Geißeln körnig werden und sich schließlich auflösen.

Bei diesen Untersuchungen stört meistens die Anwesenheit sich mit Jod sehr dunkel färbender kugeliger Einschlüsse, die fettartiger Natur sind und durch Chloroform sich spielend weglösen lassen. Ich habe mir solche Präparate in der Weise hergestellt, daß ich von einer 16stündigen Agarkultur eine Aufschwemmung in Leitungswasser herstellte, davon lufttrockene Ausstriche herstellte und diese mit der starken Jod-Jodkaliumlösung durch 5 bis 10 Minuten behandelte. Nach Abspülung der Jodlösung mit Wasser wurde das Präparat getrocknet und nun durch 5 Minuten mit Chloroform behandelt. Nach dem Entfernen desselben mit Wasser wie bei der Sporenfärbung wurde in starker Jodlösung untersucht. Diese Präparate sind von Fetteinschlüssen größtenteils befreit und gestatten einen bessern Einblick in die feineren Strukturverhältnisse. Bei diesen Präparaten gewahrt man wieder in völliger Deutlichkeit das genannte Korn, von dem die Geißeln abgehen oder die Ansammlung stärker färbbarer Substanz. In den Fig. 38—44 der Tafel II sind so behandelte Zellen mit ihren primären Geißelzöpfen abgebildet. Besonders gut zu sehen ist das Korn in den Zellen der Fig. 41, 42 und 44.

Nicht unerwähnt möchte ich hier die Beobachtungen über den Einfluß des Chloroforms auf die Geißeln von Spirillum volutans lassen. Zur Ent- Spirillums ohne vorausgehende Jodbehandlung mit Chloroform durch 10 Minuten behandelt und nach dem Waschen in der Jodlösung untersucht fernung der Fetteinschlüsse habe ich einen lufttrockenen Ausstrich unseres Nicht ein einziger primärer Geißelzopf war mehr sichtbar. Die Geißeln waren vollkommen verschwunden. Da es sich um eine Chloroformwirkung auf angetrocknete Zellen handelt, ist nicht gut anzunehmen, daß dabei eine vollständige Entfaltung der Zöpfe stattgefunden haben könnte, worauf das Unsichtbarwerden natürlich auch zurückgeführt werden könnte. Ich meine vielmehr, daß in den Geißeln durch das Chloroform Veränderungen herbeigeführt worden sind, die eine Auflösung derselben für die nachfolgende Waschung zur Folge hat. Ich habe diesen Befund nur kurz erwähnt, und werde diese Verhältnisse in einer späteren Mitteilung über die Einwirkung von narkotischen Substanzen auf die Spirillengeißeln eingehender behandeln. In den soeben beschriebenen Präparaten waren die Körner der Geißelursprungsstelle dennoch sehr gut erhalten.

Auch in kräftig plasmolysierten Spirillen treten diese Bildungen ausgezeichnet hervor, wie dies aus den Abbildungen 51, 53—56 der Tafel I zu entnehmen ist. Für diese Präparate wurde ein wenig einer 16stündigen Agarkultur in ein Tröpfchen konzentrierter Natriumchloridlösung eingetragen und kurz darauf eine gleiche Menge konzentrierter Jodlösung zugesetzt. Während sich der Protoplast von den Polen sofort stark zurückgezogen hat und eine ausgiebige Schrumpfung aufweist, sind die Basalkörner der Geißeln am Pole verblieben samt der daran haften gebliebenen geringen Menge stark färbbarer Substanz. Die im übrigen gut erhaltenen distalen Geißelabschnitte weisen bei dieser Behandlung eine feine Körnelung auf, die offenbar einem Aussalzungsprozeß zuzuschreiben ist. In sehr starker Vergrößerung habe ich die Verhältnisse in den Fig. 57, 58 und 59 der Tafel I wiedergegeben. Ab und zu gewahrt man gut die Zellhaut (Fig. 57), an der der Knopf mit der stärker färbbaren Substanz liegt. In Fig. 59 sehen wir auch noch den knopfartig verdickten Basalteil des distalen Geißelteiles, dann den die Membran durchsetzenden feinen Abschnitt des proximalen Geißelteiles samt dem Innenkorn.

Aber auch an fixierten Präparaten kommen diese Verhältnisse ausgezeichnet zur Anschauung. Die Geißeln samt ihrer Ursprungsstelle sind gut erhalten in Präparaten, die mit Formaldehyd behandelt wurden. Die Zellinhaltskörper sind dabei allerdings sehr mangelhaft fixiert. Die Präparation geschah in der Weise, daß in einem kleinen Tröpfchen Leitungswasser eine 32stündige Kultur aufgeschwemmt wurde und sofort ein ebenso großes Tröpfchen Formalin des Handels zugesetzt wurde. Nach einer 5—10 Minuten dauernden Einwirkung wurde die Jodlösung zugegeben und in ihr untersucht. Es zeigen sich dabei Befunde, wie sie in den Fig. 48—50 der Tafel I wiedergegeben sind. Der Zellinhalt ist meistens in Brocken und

Schollen aufgeteilt oder in homogenere Partien mit sehr verwischter Struktur geschieden. Selten findet man eine besser erhaltene Zelle, etwa der Fig. 49 entsprechend. Viel bessere Strukturbilder ergeben Härtungen mit einer konzentrierten Sublimatlösung in 0,5proz. Kochsalzlösung oder die Gemische von Flemming und Hermann, wie sie auf Seite 000 angegeben sind. Als Färbung empfiehlt sich die Eisenlacktinktion nach Benda. Alle so hergestellten Präparate zeigen die oben geschilderten Verhältnisse am proximalen Geißelteil des Spirillum volutans, weshalb die hier erhaltenen Befunde nicht nochmals angegeben werden sollen.

Nach den mitgeteilten Beobachtungen ist die Frage nach dem Zusammenhange der Geißel mit der Zelle dahin zu beantworten, daß der primäre Geißelzopf durch einen feinen Verbindungsfaden mit einem größeren oder kleineren Korn des Zellplasmas in unmittelbarer Verbindung steht. Dieses Korn ist in eine größere oder kleinere Menge einer etwas stärker färbbaren Substanz eingelagert, die höchstwahrscheinlich plasmatischer Natur ist, wie es aus dem späteren noch genauer hervorgehen wird.

Mit diesen Befunden des unmittelbaren Zusammenhanges von Zellplasma und Geißel decken sich auch die Befunde von Ellis (l. c.) und teilweise die früheren Angaben von Trenkmann[1]). Auch Fischer stellt eine direkte Verbindung von Plasma und Geißel durch die Membran hindurch in den einleitend wiedergegebenen Sätzen als Tatsache hin. In den Untersuchungen von Swellengrebel kommt diese Anschauung wegen dem Periplast weniger deutlich zum Ausdrucke. In den neuesten Untersuchungen von Reichert findet man eine Bestätigung meiner Befunde bezüglich eines Basalkörpers. Dieser Untersucher findet an einem Ende von abgerissenen oder abgefallenen Geißeln bezw. Geißelzöpfen meist „ein knopfartiges Gebilde". Dasselbe entspricht dem Ursprungsteil der Bewegungsorgane. Weiter schreibt Reichert: Man wird wohl nicht fehl daran tun, wenn man annimmt, daß es sich hier um ein Plasmagebilde, durch welches die Geißel mit dem Körper in Verbindung steht, handelt. Möglicherweise, daß es dem Blepharoplast bezw. dem Basalkörper, dem Bewegungszentrum der Flagellaten, an die Seite zu stellen ist, vielleicht aber handelt es sich bloß um mitabgerissene Membranstücke". Dies fügt Reichert noch als Möglichkeit für die Entstehung der Bildung dieser Knöpfe hinzu.

Um die Natur dieser Verdickung des proximalen Geißelteiles festzustellen, wurden zahlreiche Versuche gemacht, die ein eindeutiges Ergebnis hatten. Bei der Färbung von gewöhnlichen Ausstrichen unseres Spirillums mit polychromem Methylenblau zeigt dieses Korn eine rotviolette Farbe, die um so mehr rot erscheint, je isolierter dasselbe liegt. Die rotviolette Farbe scheint darauf zurückzuführen zu sein, daß der genannte Basalkörper des Geißelzopfes im Plasma eingebettet ist, das selbst eine tiefer blaue Tinktion annimmt. Es handelt sich aller Wahrscheinlichkeit nach um eine Mischfarbe. Die in Quecksilberchloridlösungen oder Alkohol gehärteten Zellen zeigen eine gleiche Färbung dieses Körpers.

Bei der Tinktion von getrockneten Ausstrichen oder in Sublimat oder

---

[1]) **Trenkmann**, Die Färbung der Geißeln von Spirillen und Bacillen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1889. p. 385.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Alkohol fixierten Zellen mit Methylgrün in essigsaurer Lösung erhält man eine ausgesprochene Chromatinfärbung dieser Gebilde. In den Fig. 46—51 der Tafel II sind Zellen abgebildet, die von einem mit Methylgrün gefärbten Präparat einer 25stündigen Agarkultur unseres Spirillums, das nach einer Quecksilberchloridfixation und nachheriger Alkoholbehandlung (siehe Seite 133) mit Methylgrün gefärbt und in Glycerin untersucht wurde. Wir sehen die distalen Geißelteile kaum in blaugrünlicher Farbe angedeutet, während die Basalkörper außer anderen Inhaltskörpern, prachtvoll leuchtend grün hervortreten. Sie erscheinen aber hier viel kleiner, als beispielsweise in den nach Benda tingierten Präparaten.

Auch die Eisenlackfärbung nach Benda gestattet einen guten Einblick in die Strukturverhältnisse der genannten Gebilde; allerdings muß der richtige Differenzierungsgrad getroffen werden, da sonst die übrigen Inhaltskörper vieles verdecken. Solche Präparate ergaben ebenfalls polar gelagerte dunkelgefärbte Körnchen, die mit den Geißeln in unmittelbarer Verbindung stehen.

Recht brauchbare Färbungen ergab die Methode nach Giemsa (siehe S. 133). Die nur kurz gefärbten Präparate zeigten Zellen, in denen der Basalkörper eine rotviolette Färbung aufwies oder rein rot gefärbt war. Die Geißelzöpfe waren in solchen Präparaten unsichtbar. Erst bei Tinktionen, die über mehrere Stunden ausgedehnt wurden, waren die Geißelzöpfe als sehr feine, schwach rosa gefärbte Fäden sichtbar.

Nach all diesen Befunden erscheint die Annahme gerechtfertigt, daß es sich beim Basalkörper der Spirillengeißeln um eine Substanz handelt, die chromatinartiger Natur ist. Da nach den bekannten Untersuchungen Arthur Meyers diese Körnchen nach gewissen färberischen Reaktionen auch als Volutin aufgeführt werden könnten, wurden Versuche unternommen, diese Frage zu entscheiden. Gegen die Volutinnatur spricht die Beobachtung, daß bei der Jodbehandlung die Basalkörper eine lichtbraune oder gelbbraune Farbe annehmen, während sich das Volutin färberisch ebenso verhält wie das Zytoplasma. Kocht man Zellen durch 5 Minuten, so werden die Basalkörper nicht gelöst. Auch eine Einwirkung von 5-proz. Schwefelsäure durch 10—30 Minuten verändert dieselben in keiner Weise. Die mit Pepsin-Glyzerin Grübler oder Pepsin-Salzsäure angestellten Verdauungsversuche ergaben, daß diese Gebilde dadurch nicht im geringsten angegriffen werden. Dadurch erscheint zur Genüge der Beweis erbracht, daß wir in diesen Basalkörpern kein Volutin zu erblicken haben.

In der Abbildung 11 der Tafel II finden wir junge Zellen von Spirillum volutans wiedergegeben, die auf dem Objektträger angetrocknet eine halbe Stunde mit 5-proz. Schwefelsäure behandelt und nachher mit Eisenhämatoxylin gefärbt worden waren. Man sieht nach dieser Behandlung nichts mehr von den Geißelzöpfen. Die proximalen Geißelteile sind aber erhalten, denn in allen abgebildeten Zellen können wir dunkelgefärbte Körnchen an einem oder an beiden Polen erblicken. Außerdem haben sich noch eine Reihe anderer körniger Gebilde gefärbt, die aber hier nicht in Frage kommen.

Unsere Figuren 29 bis einschließlich 33 der Tafel II beziehen sich auf

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

anverdaute Zellen aus einer jungen Kultur, die bei 37° C in Glyzerin-Pepsin 5 Stunden gelegen waren. Nachher wurde das Präparat mit Eisenhämatoxylin nach Benda gefärbt. Sehr klar sind die so erhaltenen Bilder in de nZellen, da entgegen den Befunden von Ernst, Růžička u. and. bei der Pepsinverdauung von den Zellinhaltskörpern des Spirillum volutans ziemlich viel weggelöst wird. Allerdings ist zu bemerken, daß die genannten Autoren ihre Versuche an anderen Bakterien angestellt hatten, was einen direkten Vergleich von vornherein ausschließt. Die Verdauungsversuche ergaben die Unverdaulichkeit dieser Gebilde. Ja selbst nach 24stündiger Einwirkung des künstlichen Magensaftes waren sie noch unverändert, wie aus den Abbildungen 34 bis einschließlich 37 der Tafel II hervorgeht, denn die mit Eisenhämatoxylin tingierten Zellen zeigen die Geißelbasalkörper sehr deutlich. Die letztgenannten Verdauungsversuche sind natürlich für den Beweis von Nukleinen in den genannten Bildungen nicht allein ausschlaggebend, sondern sollen nur die durch die Farbenreaktionen erhaltenen Ergebnisse weiter erhärten. Wir wissen ja nach den Untersuchungen von Zacharias und Frank Schwarz, daß auch das Zytoplasma höherer Pflanzenzellen sich gegen die Pepsinverdauung sehr resistent erweist, was Nemec[1]) neuerlich durch eigene Beobachtungen bestätigen konnte. Bei Spirillum volutans wird durch Pepsinsalzsäure ebenfalls nicht sehr viel wegverdaut, aber immerhin werden dadurch die Strukturen deutlicher gemacht, da gewiß etwas weggelöst wird.

Wenn wir die Natur des Basalkörpers der primären Geißelzöpfe von Spirillum volutans kurz charakterisieren wollen, so müssen wir sagen, daß derselbe in seinen färberischen Reaktionen mit dem Blepharoplasten der Trypanosomenzelle übereinstimmt und also einem Kern entspricht. Derselbe hängt mit dem Bewegungsorgan unmittelbar zusammen und dürfte gewiß auf die Bewegungen desselben einen hervorragenden Einfluß haben. Es entspricht der Basalkörper demnach dem Bewegungszentrum der Flagellaten überhaupt, wenn wir auch zur Zeit keine so komplizierten Teilungsvorgänge nachzuweisen vermochten, wie bei den Blepharoplasten der letzteren.

Daß sich an ihm aber auch Teilungsvorgänge abzuspielen scheinen, geht daraus hervor, daß wir in zahlreichen besonders jugendlichen Zellen auch zwei Körnchen an der Ursprungsstelle der Geißel nachweisen können. So beispielsweise in der in Figur 48 der Tafel II abgebildeten Zelle, an deren einem Pol zwei sehr nahe gelagerte Körnchen zu beobachten sind. Auffallend ist es, daß dieselbe Zelle außer dem großen zentralen Inhaltskörper noch nahe dem anderen Pole wandständig ebenfalls zwei kleine ziemlich nahe aneinander liegende Körnchen aufweist. Sehr ähnliche Erscheinungen zeigen sich in zahlreichen Zellen. Dort, wo zwei Basalkörper zu sehen sind, liegen sie entweder sehr knapp nebeneinander oder immer weiter voneinander entfernt. Wird diese Entfernung groß, verschwindet natürlich jedes Merkmal, aus dem die Zusammengehörigkeit beider Gebilde geschlossen werden könnte, da ein bestimmter Verbindungsfaden bisher nicht zu beobachten war. Diese Befunde legen immerhin die Annahme nahe, daß es sich bei den Basalkörpern oder Blepharoplasten von Spirillum volutans um teilungsfähige Bildungen handelt.

---

[1]) Nemec, B., Über die Natur der Bakterienprotoplasten. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 26a. 1908. p. 809.)

Durch die vorstehend beschriebenen Beobachtungen am distalen und proximalen Geißelteil von Spirillum volutans läßt sich ungezwungen der Geißelapparat für dieses Spirillum folgendermaßen feststellen: In der lebenden und nicht plasmolysierten Zelle von Spirillum volutans liegt die Ursprungsstelle des Geißelapparates gewöhnlich ein wenig vom Pole entfernt unterhalb der Membran im Zytoplasma. Derselbe entspringt von einem dem Blepharoplasten analogen Gebilde und durchsetzt dann mit einem dünnen Faden die Membran. Der außen an der Membran liegende Teil der Geißeln scheint etwas verbreitert und zusammengebacken zu sein, so daß die Abgangsstelle der Einzelgeißeln etwas von der Membran entfernt ist. Normalerweise sitzen an der Zelle 1—2 Geißelzöpfe die unter Umständen sich zu 15—25 Einzelgeißeln auflösen, die untereinander annähernd gleiche Länge aufweisen. Die Geißel selbst besitzt eine andere Beschaffenheit als der Basalkörper (Blepharoplast), welcher sich bei Färbungen kernartig erweist. Die Geißeln, beziehungsweise die primären Geißelzöpfe ,färben sich dabei nur äußerst wenig, so daß mit Sicherheit gesagt werden kann, daß sie nicht aus Chromatin bestehen. Eine feinere Struktur läßt sich an ihnen normalerweise nicht weiter erkennen. Dabei muß es dahingestellt bleiben, ob sie aus einer einheitlichen Substanz bestehen oder vielleicht aus zwei Körpern, die sich chemisch oder chemisch und physikalisch unterscheiden. Vielleicht gelingt es noch, an ihnen einen axialen oder seitlich gelagerten formbestimmenden Faden aufzufinden, der von einer dünnflüssigen Protoplasmahülle bedeckt ist, wie es Goldschmidt an Mastigamöben gelungen ist. Es kann ja sein, daß für das Auftreten der früher beschriebenen Körnelungen am Geißelfaden ein leichtflüssiges Hüllplasma die Ursache ist, nachdem wir ihnen keine Strukturelemente zugrunde legen konnten.

Bei der Plasmolyse bleibt der Basalkörper (Blepharoplast) entweder fast nackt oder von einer geringen Menge Plasma umhüllt am Zellpol liegen, wenn auch der übrige Protoplast von dort abgezogen wird und zusammenschrumpft. Bei der sogenannten Präparationsplasmolyse, die sehr allmählich verläuft, bleibt der Protoplast gewöhnlich im Zusammenhang mit dem Basalkörper. Alfred Fischer gibt diese Verhältnisse sehr gut in der Figur 9 der Tafel I seiner Abhandlung über den Bau der Bakterien wieder. Die Geißeln stehen demnach mit dem Zellkörper von Spirillum volutans unmittelbar in Verbindung, wenngleich dieselbe durch gewaltsame Plasmolyse aufgehoben werden kann. Sie sind demnach keine Membranbildungen oder „Ektoplasma“ im Sinne Zettnows.

Man könnte zwar sofort einwenden, daß meine Zeichnungen für eine Zugehörigkeit der Geißeln zur Membran sprechen, ja dieselbe direkt beweisen, da ja gerade bei der Plasmolyse der Basalkörper (Blepharoplast) samt der Geißel an der Wand bleibt und sich nur das „Protoplasma“ zurückzieht. Dies würde auch mit der Ektoplasma-Auffassung Eisenbergs im Einklang stehen. Ich muß gestehen, daß ich zuerst ebenfalls an eine solche Annahme dachte. Bei der weiteren Beschäftigung mit dem vorliegenden Gegenstande bin ich allerdings anders belehrt worden. Es kann nämlich auch eine geringe Abhebung des Basalkörpers erfolgen, in welchem Falle derselbe nicht mehr wandständig am Zellpol gelagert ist, sondern etwas der Mitte genähert ist. Trotzdem läßt sich die Geißel bis zu ihm verfolgen. Es sind dies aber nur seltene Beobachtungen, weshalb sie keinen vollgültigen Beweis zu liefern vermögen. Einen solchen erhalten wir aber durch die Erscheinungen an den sogenannten nackten Formen, die ich schon auf Seite 148 beschrieb. Dort, wo eine seitliche Aufblähung bei ihnen erfolgt und vom Pol kein Protoplasma abrückt, bleibt die Geißel, resp. der Geißelzopf in unmittelbarer Verbindung mit dem unbehäuteten Plasma. Man sieht auch hier in den meisten Fällen den Basalkörper ausgezeichnet. Beim weiteren Untergange dieser Formen verschwindet er zuletzt. Diese Formen zeichnen sich durch eine große Weichheit aus, denn sie lassen sich sehr leicht deformieren und nehmen bei Nachlassen des Druckes wieder ihre Kugelgestalt an. In angetrockneten Präparaten sind sie an der Geißelabgangsstelle etwas ausgezogen. Es gelingt absolut nicht, diese nackten Gebilde zu plasmolysieren. Auf Zusatz von stärkeren Chlornatrium- oder Kaliumnitratlösungen schrumpfen dieselben ohne daß irgendwelche Hautbildungen zu beobachten wären. Hier haben wir also Verhältnisse, die denen der nackten Amöben entsprechen. Aus dem Umstande, daß das ganze Gebilde schrumpft, dürfen wir schließen, daß hier wahrscheinlich als Grenzschicht eine Verdichtung der äußeren Plasmateile zustandekommt. Von einer Membran, wie bei dem Spirillum können wir aber nicht mehr sprechen. Trotzdem haftet daran die Geißel außerordentlich fest. Daraus geht wohl sicher hervor, daß der Basalkörper samt seinen Geißeln dem Zellkörper viel näher steht als der Zellwand und daher nicht als Produkt der letzteren aufgefaßt oder auch nur ihr zugerechnet werden kann. Ich glaube, die Befunde an den nackten Zellen lassen über die Zugehörigkeit der Geißeln keine Zweifel mehr aufkommen.

Es erübrigt noch auf die abgeworfenen Geißel samt ihrem basalen Anhang kurz einzugehen. Man findet solche in Ausstrichpräparaten ziemlich häufig, die einer öfteren Waschung unterzogen worden waren. Dieselben besitzen am Basalteil auch öfters ein Knötchen, das von Reichert beispielsweise für den Basalkörper oder vielleicht für einen anhängenden Membranrest gehalten wird. Um Membranteile handelt es sich in diesen Fällen gewiß nicht, wohl aber entweder um den Basalkörper (Blepharoplasten) oder aber um den verdickten Fußteil des Geißelzopfes, der an der Außenseite der Membran sitzt. Zur Erläuterung dieser Verhältnisse muß ein wenig über die Dicke der Zellwand nachgetragen werden. Aus zahlreichen Beobachtungen im Dunkelfelde ergibt sich, daß letztere nicht überall gleich dick ist. Sie ist an der Konvexität der Krümmung und an dem geißeltragenden Pole am dünnsten, am stärksten in der konkaven Krümmung. Es erhellt dies aus Befunden bei der Verfolgung der Entstehung der nackten Formen. Hier treten die ersten Ausbauchungen an der konvexen Seite auf, wie aus den Figuren 24, 25, 27 der Tafel II ersichtlich ist. Wenn es sich um einen Schwund der Zellwand handelt, so wird sich derselbe in erster Linie am Orte der geringsten Dicke der Wand, also an der konvexen Seite der Zelle bemerkbar machen. Dort findet auch immer die Verbreiterung der Zelle beim Entstehen der nackten Formen statt. Dort dehnt sich der frei werdende Protoplast am leichtesten aus und geht schließlich in die Kugelform über. Findet ein Rückgang des Plasmas von nur einem Pole statt, dann wird die nach völligem Schwund der Zellhaut sich abrundende nackte Form begeißelt sein und Verhältnisse aufweisen, wie sie in den Abbildungen 16—19 und 20 der Tafel II wiedergegeben sind. Dabei kommt es aber nur selten zu einem Abreißen der Geißel und wenn es geschieht, dann hängt allerdings der Basalkörper am Geißelzopf. Man kann dann an ihm dieselben färberischen Erscheinungen finden, wie in der ganzen Zelle. Für gewöhnlich zeigen aber die freien primären Geißelzöpfe einen Basalknopf, der keine Kernfärbungen annimmt, sondern sich so verhält, wie der an der Membran sitzende verdickte Basalteil der Geißel. Auch die Erscheinungen die sich bei Beobachtungen im Dunkelfelde erkennen lassen, sprechen dafür, daß an den abgerissenen Geißeln nur die verdickten Basalteile als Knöpfe erscheinen. Beim Abreißen scheint also keine Entfernung des Basalkörpers stattzufinden. Ich verweise hier auf die Figur 10 der Tafel II, wo eine im Absterben begriffene Zelle abgebildet ist, bei der die Geißel kurz nach dem Entwurf der Zeichnung abgerissen wurde. Dem glänzend weiß erscheinenden polar gelagerten Basalkörper sitzt außen der knopfförmig verdickte Teil des Geißelzopfes an, der der Membran anliegt. Er erscheint schon etwas abgezogen. Nach dem Abreißen der Geißel änderte sich in der Zelle nichts; der Basalkörper bleibt an seiner Stelle. Der Geißelzopf war dann frei neben der Zelle und zerfiel später körnig. Die homogene Beschaffenheit an der Spitze und an der Basis hatte schon früher gelitten, wie die Figur zeigt. Bezüglich der basalen Verdickung abgerissener Geißelzöpfe oder Geißeln können wir also sagen, daß dieselbe den verdicktem der Membran anlagernden Teil des primären Geißelzopfes in den meisten Fällen entspricht und nur ausnahmsweise beim Abreißen der Geißeln der Basalkörper (Blepharoplast) mitgerissen wird. Membranteile sind diese Anhängsel gewiß nicht.

Über den Zusammenhang des Basalkörpers mit dem Kernapparat von Spirillum volutans wird in einer späteren Veröffentlichung Mitteilung gemacht werden. Das gleiche gilt bezüglich der Fragen nach der verwandtschaftlichen Beziehung zwischen Spirillen, Spirochaeten und Trypanosomen.

Anhangsweise sei noch kurz etwas über den Bewegungsvorgang bei Spirillum volutans zur Sprache gebracht. Die bezüglichen Beobachtungen sind schon vor längerer Zeit gelegentlich gemacht worden, ohne für sich veröffentlicht worden zu sein. Inzwischen ist jüngst die Publikation von Reichert über die Geißelbewegung erschienen. Im Wesentlichen decken sich meine Befunde mit denen Reicherts, besonders was die Trichterbewegung bei einpoliger Begeißelung anlangt. Selbstverständlich kommt man bei 2 gleichsinnig arbeitenden primären Geißelzöpfen zu gleichen Ergebnissen, als bei Zugrundelegung von einem Geißelzopf. Wie aus den Zeichnungen 8 und 9 der Tafel II zu entnehmen ist, wird die Zelle um einen Punkt (R) rotieren, wenn man von der Fortbewegung absieht. Dabei entstehen 2 Kegel, dessen Spitzen in R liegen. Die Zellpole werden dabei Kreise beschreiben, ebenso wie jeder Punkt der schwingenden Geißeln. Bei der Fortbewegung wird der Punkt R unmittelbar der Bewegungsbahn

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

folgen, während diejenigen Punkte, die früher Kreise beschrieben, jetzt Schraubengänge markieren. Bei doppelt begeißelten Formen, wie in Figur 6 (Tafel II), wird beim gleichzeitigen Schlagen der Geißeln beider Pole keine Fortbewegung zustande kommen, sondern eine Rotation um R, bei der die Pole die größten Kreise beschreiben, während die Punkte gegen R zu immer kleinere Kreise ausführen und R selbst in Ruhe bleibt.

Zusammenfassung.

Spirillum volutans ist polar begeißelt.

Die Geißeln entspringen von einem Punkte des Zellpoles.

Sie bilden bei der Bewegung primäre Geißelzöpfe, die aus 15—25 einzelnen Geißeln zusammengesetzt sind.

Die einzelnen Geißeln sind unter einander annähernd gleich lang; ihre absolute Länge ist größeren Schwankungen unterworfen, entsprechend dem Nährboden auf dem das Spirillum gezüchtet wird.

Die Dicke der einzelnen Geißeln beträgt ungefähr 0,02 bis 0,03 μ

Die Gestalt in der Bewegung kommt einer rechtsläufigen Schraube gleich, die entweder einen Zylinder- oder einen Kegelmantel zur Grundlage hat.

Die Ruhegestalt der Geißeln entspricht einer leicht konischen Schraube, deren Ganghöhe von der Basis zur Spitze zunimmt.

An Spirillen älterer Kulturen beobachtet man an den ruhenden Geißeln zahlreiche Schraubenumgänge auf zylinderischer Basis.

Während der Einstellung der Bewegung findet eine Ausbauchung der Geißeln statt.

Die Geißeln narkotisierter oder absterbender Zellen sind sehr stark abgeflacht; häufig findet dabei eine vollständige Streckung des Geißelzopfes statt.

Unter „primären Geißelzopf“ versteht man die bei der Bewegung aneinander gelagerten und gleichsinnig arbeitenden Geißeln. „Sekundäre Geißelzöpfe“ entstehen durch Verwickelung und Verklebbung aus primären Geißelzöpfen oder einzelnen Geißeln, die dann von der Zelle sich loslösen. Letztere sind also tote Zellteile.

Der primäre Geißelzopf weist einen distalen und einen proximalen Teil auf. Ersterer reicht von der Spitze bis zur äußeren Peripherie der Zellwand; letzterer umfaßt den die Zellwand durchsetzenden Abschnitt des Bewegungsorganes samt dem basalen Korn der Geißeln im Zellplasma.

Normaler Weise zeigt der distale Geißelteil keine weitere Struktur. Erst auf Zusatz von gewissen Reagentien beobachtet man das Auftreten von feinen und gröberen Körnchen. Dies geschieht besonders auf Zusatz von Säuren und sauren Verbindungen.

Diese Körnchen entsprechen nicht einer vorgebildeten Geißelstruktur, sondern stellen ein Kunstprodukt dar.

In einem gewissen Stadium der Morphinisierung tritt ebenfalls eine körnige Struktur in den Geißelzöpfen auf. Zuerst zeigt sich die Knopfbildung an der Spitze, dann auch in anderen Abschnitten des Zopfes. Im weiteren Verlaufe findet eine Verschmelzung der Körnchen statt und schließlich findet man an Stelle der Geißeln 1 oder 2 größere Knöpfchen am Pole der Zelle.

Bei der Morphinisierung wird auch die Oberfläche der Geißel insofern verändert, als sie eine etwas klebrige Beschaffenheit bekommt und eine leichte Quellung aufweist.

Bei schwacher und kurz dauernder Morphiumwirkung werden ziemlich große sekundäre Zopfbildungen hervorgerufen. Letztere weisen aber nicht so schöne Formen auf wie man sie für gewöhnlich in älteren Kulturen vorfindet. Körnelungen in Geißelzöpfen entstehen auch beim Absterben der Zellen in stark erhöhten Temperaturen.

Getrocknete Geißelzöpfe oder einzelne Geißeln werden durch konzentrierte Natriumkarbonat-Lösung nicht angegriffen, wohl aber durch Säuren und durch Pepsin-Verdauung weggelöst.

Der distale Geißelteil steht durch den proximalen Geißelteil mit dem Zytoplasma in unmittelbarer Verbindung.

Der proximale Geißelteil besteht aus einem feinen Faden, der die Zellwand durchsetzt, und aus einem knopfartigen Gebilde, welches am Pole der Zelle an der inneren Peripherie der Zellwand liegt. Dieses Knöpfchen wird von einer Substanz gebildet, welche in Bezug auf ihr färberisches Verhalten Chromatinnatur aufweist.

Es kann dieser Körper ohne weiteres mit dem Blepharoplasten der Flagellaten verglichen werden und als Bewegungszentrum der Geißeln aufgefaßt werden.

Der Bewegungsapparat des Spirillum volutans besteht demnach aus einem dem Blepharoplasten analogen Körper, von dem ausgehend ein feiner Faden die Zellwände durchdringt, sich außerhalb derselben etwas verdickt und dann in ein Büschel von 15—25 einzelnen Geißeln auflöst.

Spirillum volutans besitzt eine ziemlich steife durch Plasmolyse und bei der Eintrocknung leicht

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

darstellbare Zellwand, welche nicht in gleichmäßiger Dicke den Protoplasten umgibt, sondern am dünnsten auf der Konvexseite und am dicksten auf der konkaven Seite des Spirillum ist. In sehr alten Kulturen und bei höherer Temperatur findet eine Lösung dieser Zellmembran statt, wodurch nackte Formen von annähernder Kugelgestalt entstehen. Dieselben sind vielfach noch begeißelt.

Die abgerissenen Geißeln und primären Geißelzöpfe weisen gewöhnlich an ihrem basalen Teil eine Verdickung auf, welche meistens dem der Membran ansitzenden basalen Teil des Zopfes entspricht, mitunter aber auch dem Basalkorn.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1, 2, 3. Zellen aus einer fünf Wochen alten Kultur, in Wasser aufgeschwemmt und mit konzentrierter Jod-Jodkaliumlösung behandelt.

Fig. 4, 5. Spirillen aus einer durch fünf Wochen bei Zimmertemperatur gezüchteten Agarkultur, die in Leitungswasser aufgeschwemmt wurde. Der lufttrockene Ausstrich wurde mit einer 5proz. Natriumkarbonatlösung durch 10 Minuten behandelt, dann gewaschen und in konzentrierter Jod-Jodkaliumlösung untersucht.

Fig. 6. Zelle aus einem lufttrockenen Ausstrich einer 24stündigen Kultur. Nach der Trocknung wurde das Präparat in der starken Jod-Jodkaliumlösung untersucht.

Fig. 7. Spirillum aus einem Ausstrichpräparat einer 20stündigen Kultur. Färbung mit Eisenhämatoxylin ohne nachherige Differenzierung.

Fig. 8, 9, 10, 11, 12. Zellen aus einem Ausstrich einer 48stündigen Agarkultur, der nach dem Trocknen mit einem Tropfen Wasser und starker Jod-Jodkaliumlösung eingeschlossen wurde.

Fig. 13. Gleich Fig. 4.

Fig. 14, 15. Spirillen aus einer 48stündigen Agarkultur. Die wässerige Aufschwemmung wurde nach dem Trocknen durch 5 Minuten mit einer konzentrierten Natriumkarbonatlösung behandelt, abgespült und in der starken Jod-Jodkaliumlösung eingeschlossen.

Fig. 16, 17. Zellen aus einer angetrockneten Aufschwemmung einer 48stündigen Kultur. Nach der Wasserspülung wurde das Präparat in der konzentrierten Jod-Jodkaliumlösung eingeschlossen.

Fig. 18. Gleich Fig. 7.

Fig. 19. Gleich Fig. 16.

Fig. 20, 21, 22, 23. Eine Aufschwemmung einer 24stündigen Agarkultur in einer 1proz. Morphinlösung wurde zu einem Trockenpräparat verarbeitet. Nach dem Trocknen wurde durch 2 Minuten mit einer konzentrierten Natriumkarbonatlösung behandelt, gewaschen und schließlich in der starken Jod-Jodkaliumlösung eingeschlossen.

Fig. 24. Gleich Fig. 16.

Fig. 25. Eine 24stündige Agarkultur wurde in einer 1proz. Morphinlösung aufgeschwemmt, getrocknet und dann mit Wasser gespült und sofort nach dem Jod-Jodkaliumzusatz untersucht.

Fig. 26, 27. Die Kulturaufschwemmung von Fig. 25 wurde nach dem Trocknen ohne vorhergehende Waschung mit der starken Jod-Jodkaliumlösung versetzt.

Fig. 28. Zellen aus einer 5tägigen Agarkultur, die in einer 1proz. Morphinlösung aufgeschwemmt und dann getrocknet worden war. Hierauf wurde in Wasser abgespült und in der starken Jod-Jodkaliumlösung untersucht.

Fig. 29. Gleich Fig. 25.

Fig. 30. Gleich Fig. 28.

Fig. 31. Gleich Fig. 26.

Fig. 32 bis einschließlich Fig. 42. Gleich Fig. 28.

Fig. 43. Gleich Fig. 13.

Fig. 44, 45. Gleich Fig. 28.

Fig. 46. Gleich Fig. 6.

Fig. 47—50. Etwas von einer 30stündigen Agarkultur des Spirillum volutans wurde in einem Tröpfchen Wasser aufgeschwemmt und die gleiche Menge Formol hinzugefügt. Untersucht wurde in konzentrierter Jod-Jodkaliumlösung.

Fig. 51—59. Eine junge Kultur unseres Spirillum wurde in einem Tröpfchen konzentrierter Natriumchloridlösung aufgeschwemmt und dann unter Zusatz der gleichen Menge starker Jod-Jodkaliumlösung beobachtet.

Fig. 60. Gleich Fig. 16.

Tafel II.

Fig. 1—10. Hier sind Verhältnisse wiedergegeben, wie sie sich in einer 24stündigen Agarkultur von Spirillum volutans bei der Untersuchung im Dunkelfeld finden. Zur Erzeugung desselben diente ein Reichertscher Spiegelkondensor in Verbindung mit Kalklicht als Lichtquelle. Beobachtet wurde entweder mit dem Zeißschen 2 mm Apochromaten oder dem Reichertschen Trockensystem No. 9.

Fig. 11. Zeigt Zellen aus einer 16stündigen Agarkultur, die im Ausstrich angetrocknet und dann durch 30 Stunden mit einer 5proz. Schwefelsäurelösung behandelt worden waren. Gefärbt wurden die Präparate mit Eisenlack.

Fig. 12. Eine wässrige Aufschwemmung einer 48stündigen Kultur wurde unter dem Deckglase mit konzentrierter Essigsäure versetzt, schwach abgesaugt und die starke Jod-Jodkaliumlösung zugegeben.

Fig. 13. Zeigt Bilder aus einem Ausstrichpräparat einer vollständig vertrockneten Agarkultur unseres Spirillums, die nach dem Aufschwemmen in Wasser rasch getrocknet und mit Karbolfuchsin gefärbt worden war.

Fig. 14—28. Hier sind sogenannte nackte Formen wiedergegeben, wie sie in älteren Kulturen von Spirillum volutans entstehen, die bei Temperaturen zwischen 37 und 42° C längere Zeit hindurch gehalten werden. Ausstrichpräparate wurden nach langsamem Auftrocknen an der Luft mit Eisenhämatoxylin nach Benda gefärbt.

Fig. 29—33. Auf dem Objektträger angefertigte Ausstriche von einer 20stündigen Kultur wurden durch 5 Stunden einer Verdauung in Glycerin-Pepsin unterworfen und nachher mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Differenziert wurden die Präparate nicht.

Fig. 34—37. Präparate, wie sie in Fig. 29—33 beschrieben worden sind, wurden durch 24 Stunden der Verdauung unterworfen und dann nach Benda tingiert.

Fig. 38—44. Trockene Ausstriche aus einer 24stündigen Agarkultur wurden zuerst durch 5 Minuten mit der konzentrierten Jod-Jodkaliumlösung behandelt, dann in Wasser gewaschen, getrocknet und durch 5 Minuten mit oftmals gewechseltem Chloroform versetzt. Nach dem Abgießen desselben wurde ein Tropfen Wasser und ebenso viel starke Jod-Jodkaliumlösung zugesetzt und untersucht.

Fig. 45. Die Zelle stammt von einer 16stündigen Agarkultur, die in Leitungswasser aufgeschwemmt, mit der konzentrierten Jod-Jodkaliumlösung versetzt und so beobachtet wurde.

Fig. 46—51. Von einer 25stündigen Agarkultur wurden in Brunnenwasser Ausstriche angefertigt und diese noch feucht sofort mit einer gesättigten Auflösung von Quecksilberchlorid in ½proz. Chlornatriumlösung versetzt. Nach 30 Minuten wurde die Sublimatlösung mit 70proz. Alkohol entfernt, dann das Präparat durch steigenden Alkohol in starken gebracht, in dem es 24 Stunden verblieb. Dann kam es in absoluten Alkohol und von dort auf eine Viertelstunde in Chloroform, hierauf zurück in absoluten Alkohol und durch immer schwächere Alkohole in Wasser. Gefärbt wurde durch 15 Minuten in essigsaurer Methylgrünlösung, untersucht in Glycerin eingeschlossen.

Fig. 52, 53. Ein Tropfen einer Kulturaufschwemmung von einer 72stündigen Agarkultur wurde mit einem Tröpfchen 5proz. Hämateinlösung versetzt und darin untersucht.

Tafel III.

Fig. 1. Photogramm eines Ausstriches von einer 48stündigen Agarkultur, gezüchtet bei 28° C. Aufgeschwemmt wurde in 0,5proz. Morphinlösung, hierauf rasch getrocknet, mit Wasser tüchtig gespült und sofort unter Zusatz von konzentrierter Jod-Jodkaliumlösung eingeschlossen. V. = 1300.

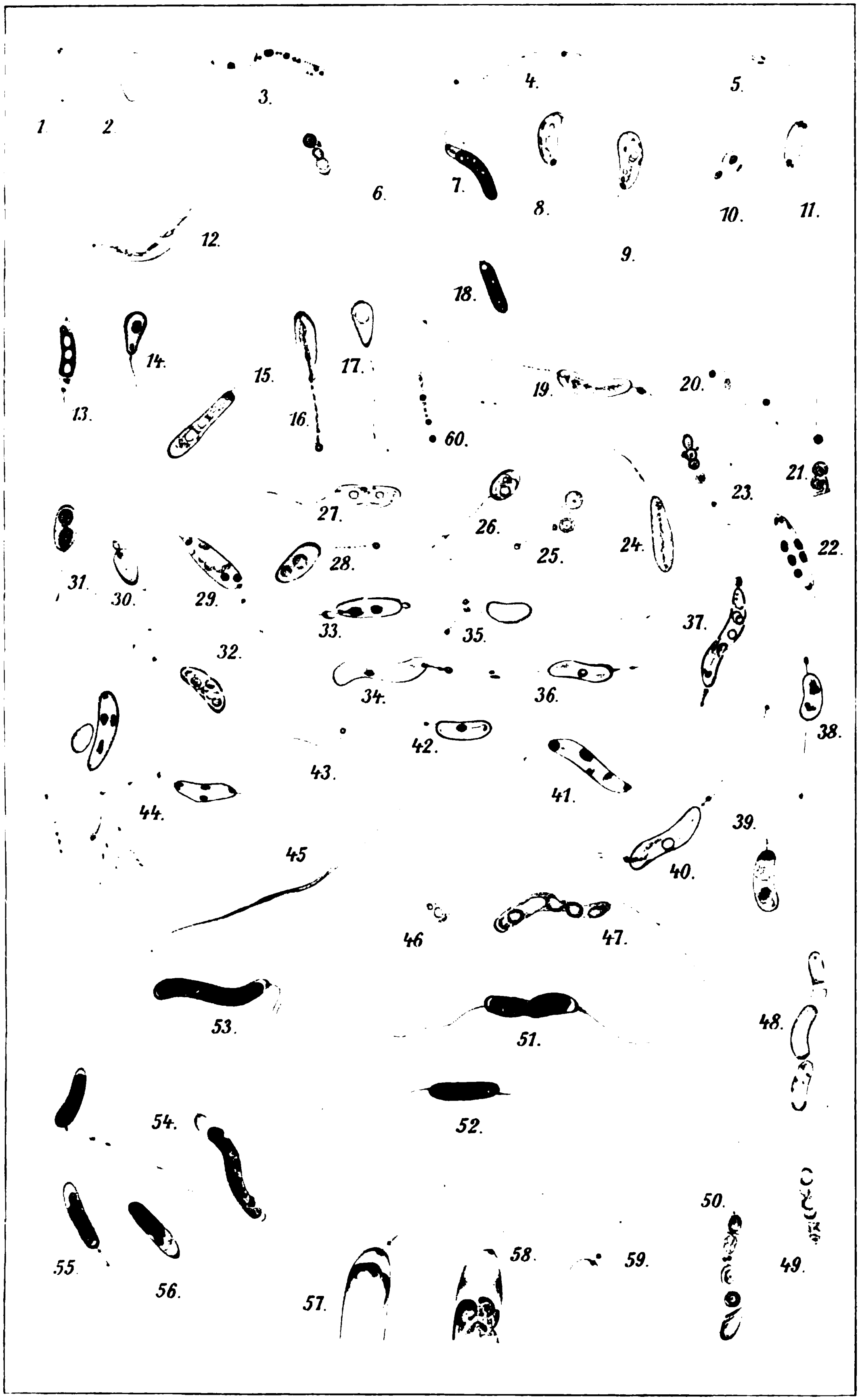
Fig. 2. Der Ausstrich wurde wie für Figur 1 angegeben hergestellt, aber langsam getrocknet. V. = 1300.

Fig. 3. Photogramm eines Jodpräparates von einer 24stündigen Agarkultur. V. = 1300.

Fig. 4. Ausstrich von einer durch mehrere Wochen bei 37° C gehaltenen Agarkultur von Spirillum volutans, photographiert in starker Jod-Jodkaliumlösung. V. = 1200.

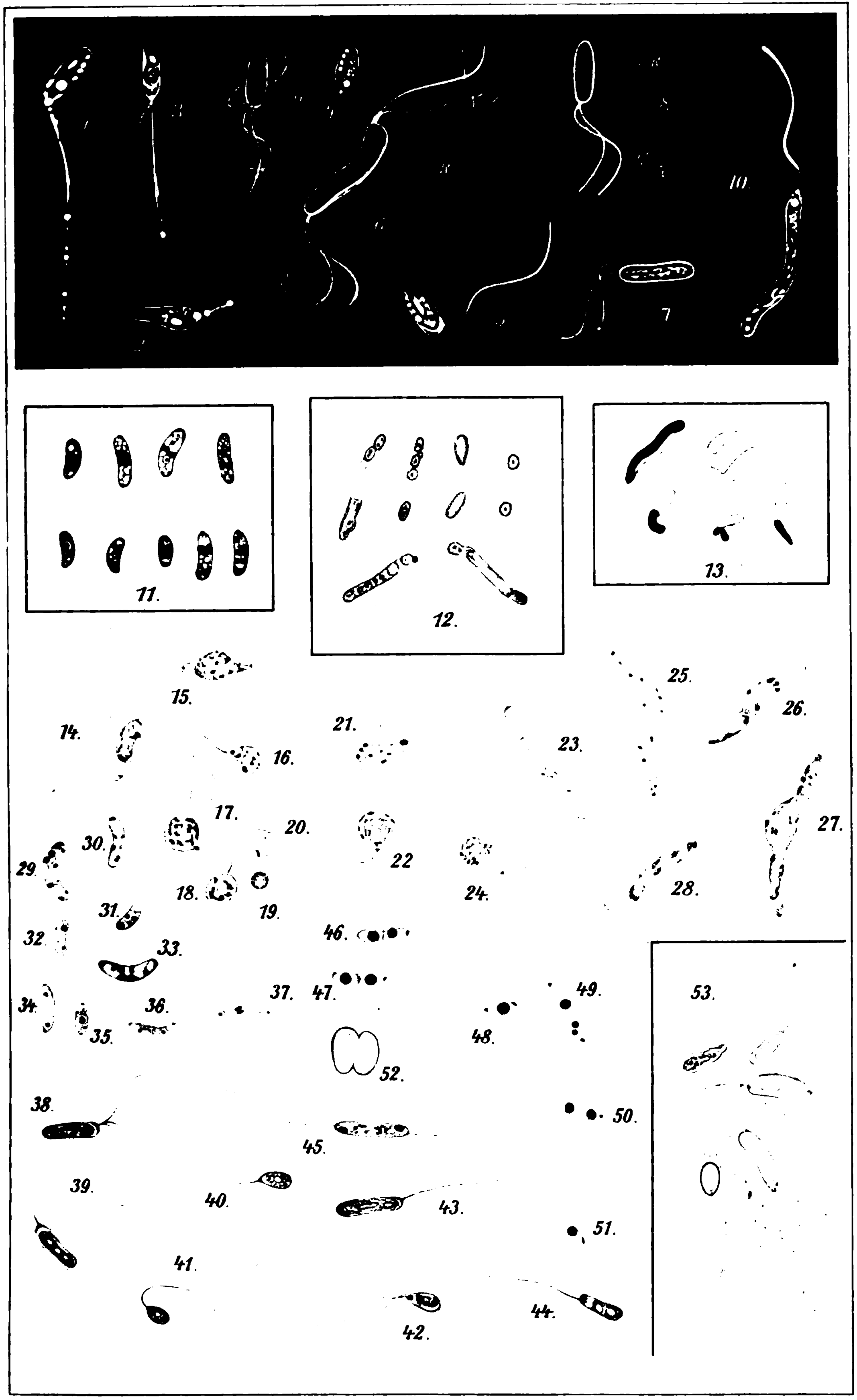
Fig. 5. Photogramm einer anderen Stelle des für Fig. 4 angegebenen Ausstriches. V. = 1200.

Centralblatt f. Bakteriologie Abt. II. Bd. 25. *Fuhrmann, Geisseln v. Spirillum volutans. Taf. I.*


1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.
19.
20.
21.
22.
23.
24.
25.
26.
27.
28.
29.
30.
31.
32.
33.
34.
35.
36.
37.
38.
39.
40.
41.
42.
43.
44.
45
46
47.
48.
49.
50.
51.
52.
53.
54.
55.
56.
57.
58.
59.
60.

Fuhrmann gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

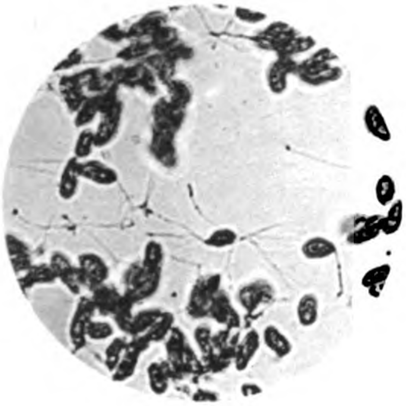
Centralblatt f. Bakteriologie Abt. II. Bd. 25. Fuhrmann, Geisseln v. Spirillum volutans. Taf. II.


7
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.
19.
20.
21.
22
23.
24.
25.
26.
27.
28.
29.
30.
31.
32.
33.
34.
35.
36.
37.
38.
39.
40.
41.
42.
43.
44.
45.
46.
47.
48.
49.
50.
51.
52.
53.

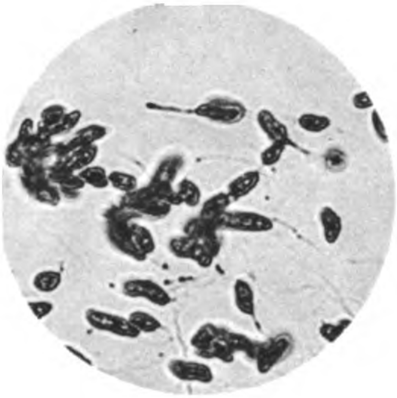
Fuhrmann gez.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

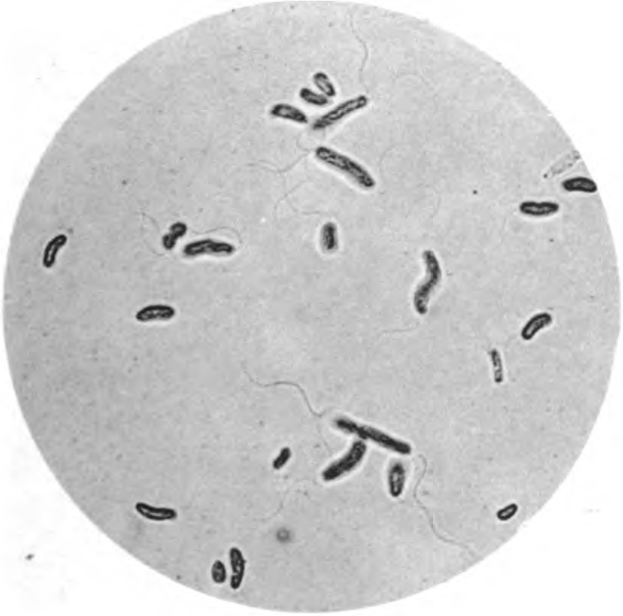
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.



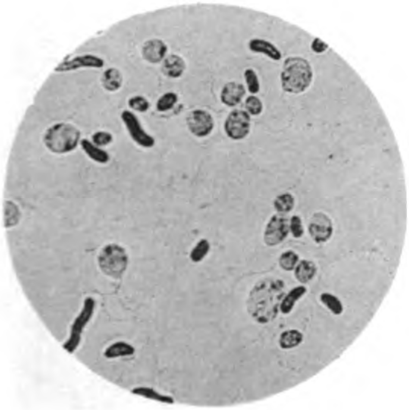
1



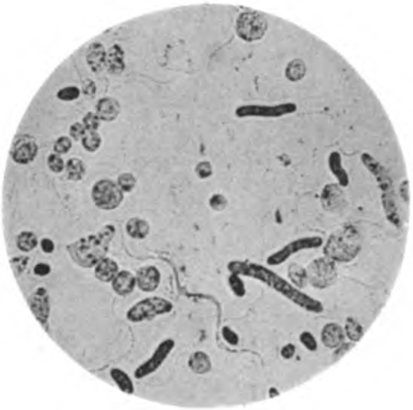
2



3



4

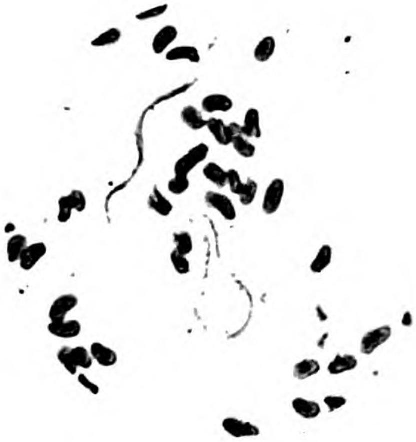


5

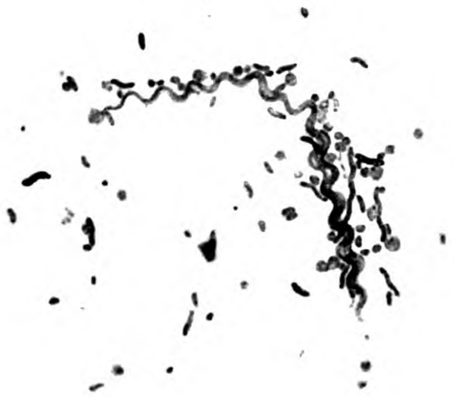
Fuhrmann phot.

J. B. Obernetter, München, reprod.

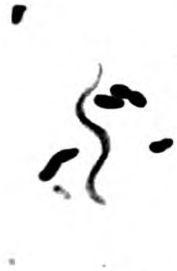
Centralblatt f. Bakteriologie Abt. II. Bd. 25. Fuhrmann, Geisseln v. Spirillum volutans. Taf. IV.



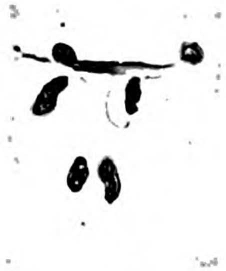
1



2

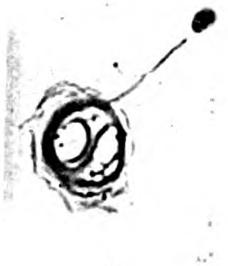


3

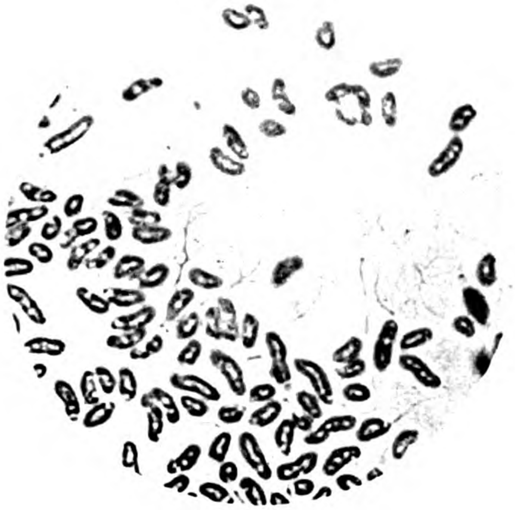


4

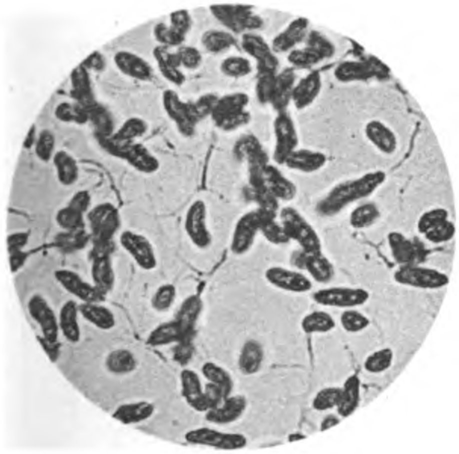
5



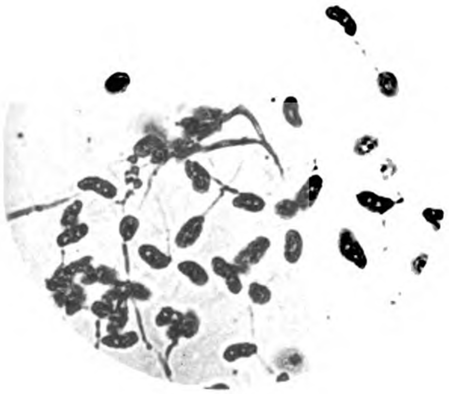
6



7



8



9

mann phot.

J. B. Obernetter, München, reprod.

Tafel IV.

Fig. 1. Photogramm eines Ausstriches einer 22stündigen Agarkultur. Die wässrige Aufschwemmung wurde getrocknet, dann durch 10 Minuten mit einer gesättigten Natriumkarbonatlösung behandelt, mit Wasser gewaschen und in konzentrierter Jod-Jodkaliumlösung eingeschlossen. V. = 1000.

Fig. 2. Lichtbild eines in starker Jodlösung eingeschlossenen Ausstriches einer 14tägigen Agarkultur. V. = 500.

Fig. 3. Entspricht einer anderen Stelle des Präparates von Fig. 2. V. = 1000.

Fig. 4, 5, 6. Photogramme von Zopfbildungen und Geißelverschlingungen aus einer 5tägigen Agarkultur. Der Ausstrich wurde mit 1proz. Morphinlösung trocknen gelassen, gewaschen und dann in der starken Jod-Jodkaliumlösung eingeschlossen. V. = 1200.

Fig. 7. Ausstrich von einer 48stündigen Agarkultur, in starker Jod-Jodkaliumlösung photographiert. V. = 1300.

Fig. 8, 9. Photogramme eines Ausstriches von einer 48stündigen Agarkultur, deren Aufschwemmung mit einer 1proz. Morphinlösung gemischt und rasch getrocknet worden war. Nach der Wasserspülung wurde in der konzentrierten Jod-Jodkaliumlösung eingeschlossen. V. = 1300.

Nachdruck verboten.

Observations on certain lactic acid Bacteria of the so-called Bulgaricus type.

[From the Department of Bacteriology, Hoogland Laboratory, Brooklyn, N.-Y., U. S. A.]

By **Benjamin White** and **Oswald T. Avery.**

With 2 plates, 4 tables and 1 figure in the text.

The attempts to formulate a definite classification of the organisms producing lactic acid fermentations in milk have been rewarded with a more or less incomplete measure of success. There still exists a certain degree of confusion regarding the biological relationships and identities of the more common milk-souring bacteria indigenous to western Europe and America. To the list of organisms already isolated and described there has recently been added those constituting the bacterial flora of the curdled milks of Turkey, Egypt, Bulgaria and other eastern countries. These milks contain bacteria which, at least in so far as their activities in milk are concerned, are unique.

A review of the various published descriptions of Kefir, Yoghurt, Mazun, Leben and the less well known Gioddu draws attention to the fact that in the majority of instances the authors have described the microörganisms isolated and studied in each case as separate and distinct bacterial entities. Kuntze was the first not only to draw comparisons between the different organisms thus described, but also to point out further the possible relationships existing between these particular bacilli and the various species of lactic acid producing organisms already described. During the past two years the bacilli from these milks have received an increased amount of attention from bacteriologists because of their almost universal employment in in combating the putrefactive organisms producing intestinal autointoxication.

The bacillus isolated from Bulgarian Yoghurt and first described by Grigoroff of Prof. Massol's laboratory — the so-called Bacillus bulgaricus or Bacillus of Massol — has been the organism of this type most discussed, and has generally been considered as constituting a new and distinct species. In this connection however it is of interest to review the descriptions of other bacilli found in soured milks of a similar character. The first published study in this connection is that of Kern on the microorganisms present in Russian Kefir. Since his observations were carried out as early as 1881, the nature of the bacteriological methods of that time renders his results of doubtful value for the purpose of comparison. It seems probable, as Löhnis suggests, that the bacillus called Dispora caucasicum by Kern belonged to the Subtilis or Mesentericus groups. On the other hand it is quite likely that the Bacterium caucasicum isolated from Kefir by Beijerinck was the first individual of this particular group to come under observation. A similar bacillus from the same source is described by v. Freudenreich who gives preference to the name Bacillus caucasicus. The very thorough investigation of the Egyptian Leben raïb by Rist and Khoury revealed the existence of two somewhat distinct types of lactic acid bacilli, the Streptobacillus lebenis and the Bacillus lebenis. The detailed study of their characters establishes their general relationship to organisms of the Caucasicum group, and furnishes an accurate basis for comparing allied bacteria. Three years later Grigoroff isolated from Yoghurt two bacilli which correspond in many respects to the two Leben organisms described by Rist and Khoury. These he designated as Bacillus A and Streptobacillus C and it is the former which has been so widely known under the title of Bacillus bulgaricus. Although this bacillus, according to the author, produces a higher degree of acidity in milk than does the streptobacillus, and although it shows certain other differences in its characteristics, yet the many striking resemblances observed would seem to denote an intimate relationship between these two types. Unfortunately accurate comparisons between these four organisms are rendered impossible by the lack of corresponding details. In 1906 Cohendy described under the name of Bacillus bulgaricus an organism isolated from Bulgarian milk which is probably identical with the Bacillus A of Grigoroff. One of the most striking features of this organism was the production in milk of an unusually large amount of lactic acid, 3,23 per cent being found after ten days incubation at 36°. In Armenian Mazun Düggeli demonstrated the presence of a somewhat similar bacillus, the protoplasm of which showed the presence of more intensely staining granules. It was less active than Bacillus bulgaricus in the production of acid, yet it exhibited morphological and cultural features peculiar to the Caucasicum group. The existence of a related bacterium is suggested by the observations of Grixoni, who found but failed to isolate a long granule-containing bacillus in the Sardinian sour milk Gioddu. Weigmann, Gruber and Huss described a bacillus repeatedly isolated from Mazun, which is undoubtedly identical with that studied by Düggeli. Owing to its origin the name Bacillus Mazun was applied to it.

Directly comparable to the observations of Grigoroff, Rist and Khoury, Düggeli and Weigmann, Gruber and Huss are the findings of Luerssen and Kuhn who isolated, in addition to a bacillus obtained from several commercial preparations and called by them Bacillus bulgaricus, a second organism which they designate as the Körnchenbacillus. They found these two bacilli to differ from each other in several important characters, and these differences are sufficient, they consider, to establish their identity as two distinct species. The latter organism, when stained with alkaline methylene blue or with the Neisser stain, is seen to contain granules which are not observed in the cell body of the Bacillus bulgaricus. Although Düggeli mentions these granules these authors are the first to consider this feature as an important ground for differentiation. In addition to this difference, according to Luerssen and Kuhn, the Körnchenbacillus is to be distinguished from the Bacillus bulgaricus in the following respects;

a) By its longer and more slender form and its greater tendency to the formation of threads and chains.

b) By the appearance of the colonies of the two bacilli.

c) The Körnchenbacillus grows at lower temperatures than does the Bacillus bulgaricus, good at 37° and 45°, not at all at 22° and only slightly at 50°, while the Bulgaricus grows best at 45° to 50°, but develops slowly and feebly at 37°.

d) The former does not grow on potato, while the latter does.

e) Milk is quickly and firmly coagulated by the Körnchenbacillus at 37° to 40°, the Bulgaricus on the other hand produces only a soft curd in milk and then only after several days incubation.

These characters ascribed to the Bacillus bulgaricus by the authors are not in entire agreement with those described by others. This matter will be more fully discussed in another part of this paper[1]).

When one reviews and compares the original detailed descriptions of the various bacilli mentioned above it is apparent that all these organisms possess in common, to a greater or less degree, certain characteristics which would seem to justify their classification in a group separate and distinct from other more usual organisms producing lactic acid in milk[2]). It will be found further that many of these morphological features are included in the summary of distinctive characters of the group Bacterium caucasicum (Kern) L. et N., as reviewed by Löhnis, wo distinguishes six general types, viz. —

I. Milk coagulating, gas producing, Bac. casei Freudenreich.

II. Milk coagulating, non-gas producing, (Bac. casei Leichmann).

III. Milk non-coagulating, gas producing, (Bact. caucasicum).

IV. Milk non-coagulating, non-gas producing, (Bac. Delbrücki).

V. Slime producing type.

VI. „Rankenbildener" type.

---

[1]) Since the completion of the present investigation Heinemann and Hefferan report the isolation from various sources of numerous cultures of bacilli which they beleive to be identical with the Bacillus bulgaricus. From their observations they conclude that "the Bacillus bulgaricus is widely distributed in nature, that it occurs normally in human feces, in the feces of cows and horses, also in a variety of sour and aromatic foods, in food for cattle, in normal saliva, in normal gastric juice, and in gastric juice when hydrochloric acid is absent, in various fermented milks, in ordinary market milk, and in soil both manured and not manured." The further corroboration of these findings would yield much of interest regarding the distribution and occurrence of this organism.

[2]) It is felt that the repetition of the descriptions of the organisms referred to would be superfluous since they have so recently appeared in the literature, and further, since these original articles are published in journals easily accessible.

Among the better known examples of these six types Löhnis mentions the various varieties of the Bacillus casei Freudenreich, Lactobacillus caucasicus Beijerinck, Bacillus caucasicus Freudenreich, Bacterium casei I—III Leichmann et Bazarewski, Bacillus Delbrücki Leichmann, Streptobacillus lebenis and Bacillus lebenis of Rist and Khoury. and the Bacillus Mazun of Düggeli. Similar organisms mentioned by Heinemann are Bacillus panis fermentati and Leptothrix buccalis.

Kuntze has recently suggested the probable relationship existing between some of the bacilli of this group and the Oppler-Boas bacillus, Bacillus acidophilus, Bacillus gastrophilus, and Bacillus bifidus communis. Even more recently Rodella asserts that these five last named organisms are identical. The relationships existing between these various lactic acid producing bacilli as might be disclosed by an accurate comparative study of their morphological, cultural, and biochemical characters offers an interesting field for further investigation. Such an investigation would undoubtedly establish the identity of several of these bacteria which at present are considered as distinct varieties, and further would yield a more satisfactory basis for a definite classification. By no means the least service crendered would be the abolishment or change of some of the confusing and inappropriate names. According to precedence the name Bacterium caucasicum could be used to designate the group, but this name as well as the name Bacillus Mazun, Bacillus bulgaricus, Bacillus lebenis, and Streptobacillus lebenis have scant justification when considered upon the ground of their accuracy or descriptiveness.

It has been the purpose of the present investigation to observe under identical conditions in a comparative way the salient features of a series of lactic acid producing, milk curdling bacilli originally isolated from oriental milks. In order that the results obtained might serve as a basis of comparison in further studies of these and allied organisms the analytical scheme of Lehmann and Neumann, and the plan endorsed by the Society of American Bacteriologists were adopted. Such omissions and variations were made as seemed to be indicated by the conditions met, but these were of slight importance.

The Organisms.

The various cultures chosen for study were of following origins;

Bulg.	Received from Dr. Besredka of the Institut Pasteur, March 1908, under the name „Bacille bulgare Cohendy.“
B. M.	An original culture marked „Bacille bulgare“ supplied by the Societe Le Ferment of Paris to their American representative, August 1908.
Led.	From the Lederle Laboratories, New York, August 1908, originally from Prof. Metchnikoff.
B. K.	From Král, October 1908, marked „Bacillus bulgaricus.“
P. K.	From Král, October 1908, marked „Bacillus paralacticus“.
6a—1	Isolated October 1908 from „Bacillac“ prepared by the Lactobacilline Co., New York.
7a—1	Isolated from Lactobacilline Malt obtained in Paris July 1908.
7a—2	Isolated September 1908 from Lactobacilline Malt prepared by the Franco-American Ferment Co., New York.
IX—1	Isolated from Bacillac in March 1908.

XXIV—1	Isolated March 1908 from sour milk obtained from native Syrians in Brooklyn.
W.	Isolated by and received from Prof. Kuntze of Leipzig marked „Bact. Yoghurt, Varietät W“.
35a—1	Isolated October 1908 from „Zoolak“, a commercial Mazun prepared by Dr. Dadirrian, New York.
36a—1	Isolated October 1908 from a commercial Armenian sour milk.
41a—1	Isolated October 1908 from Mazun prepared by native Armenians in New York.
42a—1	Isolated October 1908 from sour milk prepared by native Armenians in New York.
K.	Isolated by and received from Prof. Kuntze of Leipzig marked „Körnchenbacillus“.

For purposes of convenience the cultures from Bulg. to W. will be referred to as Type A, those from 35a—1 to K. inclusive as Type B.

While it is quite probable that the above list includes strains having a common origin yet these have been subjected to varying conditions of cultural environment. In order to learn the influence of long continued solitary cultivation, of symbiosis with yeasts, bacilli and cocci, and of cultivation in different media the possibly identical strains were therefore included. These sixteen cultures were cultivated and studied simultaneously and always under identically analogous conditions. In addition to the above some twenty different strains of similar bacilli were isolated from various sources, comprising commercial preparations from Germany, France, England, Scotland, Switzerland and the United States, also specimens of sour milk obtained from southern Siberia, Sofia, and from the natives of Armenia, Syria, and Egypt living in New York City. These isolations were accomplished during the course of the investigation, and the organisms thus isolated were compared as to their essential features with the strains already studied. No new types were found and since none of these organisms showed any significant variations from those listed no mention will be made further than to associate them with the types included in the present study.

Detailed Features.

I. Morphology.

1. Whey agar.[1]) The following characteristics are common to all strains; wide variation in length, from 2 μ to 50 μ, breadth about 1 μ. Nearly all individuals are intensely Gram positive and these show regularity of outline. They are straight to slightly curved, with rounded ends and show no vacuoles or granules. All strains show involution forms exhibiting vacuoles, often appearing as empty cell membranes. These forms are Gram negative and vary greatly in both dimensions also in form. All show a tendency to chain formation, some being arranged in chains of 6 to 25 segments. The chain may contain both Gram positive and Gram negative individuals. Gram negative spherical bodies, varying from 0.25 μ to 1 μ are seen adhering directly to the sides of some Gram negative individuals in strains of Type B.

2. Whey. In their behavior in whey these organisms exhibit some features of decided interest. The tendency toward degeneration and involution is marked. In the early stages of incubation at 37.5° or 44° the bacilli are uniform in size and intensely Gram positive while in the succeeding stages the irregular, vacuolated, inflated and ruptured forms predominate. These latter forms invariably decolorize. Between the 18th and 24th hour of incubation at 44° the strains of type A develop a morphological peculiarity first noted by Kuntze. This is the formation of oval to kidney-shaped

---

[1]) The whey, whey agar, and whey gelatin were prepared according to the method of Cohendy.

nodules attached to a small stem extruding from the cell substance. As the incubation is prolonged these nodules increase in size, often measuring 1 μ to 2 μ in length, and their increase always takes place at the expense of the cell protoplasm. It is further observed that without exception these bodies as well as the parent bacillus are Gram negative. Their formation may undoubtedly be considered a true plasmoptosis. Two forms may be distinguished. In one the stem apparently projects from the cell body, while in the other the nodule is situated at the junction of two dividing bacilli which form an angle greater than 90°. or this juncture may be considered as a point of marked indentation of a single bacillus. (See plate I). While this feature is observed to a slight extent when the bacilli are cultivated on whey agar, and in a very few instances in milk, it appears to be a marked characteristic of the growth in whey.

Cultures of type B present quite another appearance. No stemmed nodules are present, but instead small spherical bodies are seen which are more or less securely attached to the cell wall. These may become detached and their presence in the medium lead to the suspicion of a coccal contamination. In the case of the stemmed nodules a single bacillus rarely if ever extrudes more than one bud, while in the latter instance the bacterium may have a number of these small spheres adherent to it.

The second feature of interest is the tendency shown by the strains of type A to grow in the form of short bacilli arranged in chains, while the strains of type B develop to a greater length and exist almost exclusively as single isolated forms. Forms have been observed in the cultures of type B which exhibit true branching. These bacilli are Y shaped, the segments of which rarely exceed 2 μ in length.

Examined in a hanging drop at various stages of developement motility was never observed.

3. Milk. Since milk is the natural habitat of the bacteria of this particular group, the morphological features which they manifest when cultivated in this medium may be considered as constituting a criterion. As in whey the age of the culture has a marked influence upon the form of the bacteria In young cultures the bacilli show regularity of outline although wide variations in their length are observed. In each of the cultures individuals exist whose length scarcely exceeds their breadth, while others show a decided tendency to thread formation. Threads may be seen which exceed 50 μ in length. It is therefore difficult to make any definite statements in regard to average length. The breadth is more constant, varying between narrow limits. The average breadth is about 1 μ, although the longer forms are more slender and average about 0.7 μ. There is less tendency to chain formation than in whey yet chains of 4 tp 10 segments have been observed in cultures of type A. Type B shows longer and less straight forms. In older cultures longer individuals predominate in all strains. When grown in symbiosis with yeasts and the more trivial milk organisms the developement of the longer forms is restricted, the length averaging 4 to 8 μ. As might be inferred there is little or no degeneracy and very rarely are nodules observed.

4. Endospores. The presence of spores was observed in no case. In the degenerated forms certain lighter staining areas are seen which have suggested the nature of spores to some observers, although they are usually considered as vacuoles. Piffard suggests the name „lucidoles“. The fact that these bacteria, when young and most active, exhibit a low degree of

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

vitality and resistance would argue against the possibility of reproduction by spore formation.

5. Capsules. Nothing to suggest the presence or formation of capsules was observed.

6. Staining reactions. All strains are readily stained by the usual anilines.

a) Gram: — Young individuals invariably show intense staining with this method. Older bacilli are more easily decolorized, and both dead and degenerate forms are always negative. In those forms not intensely stained there may be observed the presence of minute, deeply stained granules irregularly distributed throughout the protoplasm. This feature was found to be common to all strains. When chain formation is present not infrequently a segment is seen which is decolorized while the other elements of the chain are deeply stained. Further, single bacilli have been observed which exhibit color gradations from positive at one pole to negative at the other.

b) Loeffler's Methylene blue: — By means of the behavior of the organisms studied to this stain a separation into two types seems possible. The protoplasm of those of Type A is uniformly impregnated while that of Type B shows a distinct differentiation. The cell body is seen to contain a varying number of round to oval bodies or granules having a diameter equal to that of the cell and stained purplish red. These bodies are present whether cultivation has taken place in milk or whey. In the latter case they are more marked in the younger individuals, becoming less distinct and fewer in number as developement progresses, while in milk they are to be found in old cultures. These granules have been observed during varying periods of incubation and their presence noted at the end of 18 hours and after 21 days. Generally they occur only in the minority of forms and are less conspicuous in the longer individuals.

c) Neisser's stain: The granules just described are intensely stained by this procedure. In Type A none of the strains has ever exhibited the least affinity for the polar stain.

The granules were noted by Düggeli in the Bacillus Mazun and under the name „Körnchen“ have been described by Luerssen and Kuhn. More recently this characteristic has been discussed in detail by Kuntze who holds the opinion that their presence is by no means a constant or permanent character, and that their formation is dependant upon conditions of growth which may be lacking at times. He therefore is disinclined to consider this feature a valid point of differentiation. In the present study, on the other hand, no variation has ever been noted. Fourteen of the sixteen strains have been under observation during a period of about sixteen months, in which time the influence of solitary cultivation as well as that of symbiosis has been noted. None of the organisms thus observed has been found to either gain or lose this character. On the ground of this evidence the presence of granules is tentatively held as establishing a mark of dissimilarity of type. No inquiry into the nature of these bodies has been attempted. (See plates III, IV).

II. Cultural Features.

The majority of the cultural features described by Löhnis as distinctive of the group Bacterium caucasicum are displayed to a conspicuous degree by all of the organisms studied. When freshly isolated from their natural environment — milk — they do not develop on any of the usual nutrient media, even though sugar be present. Isolation can only be effected by the employment of whey agar (Cohendy). Even upon this medium under the optimum conditions as to temperature, etc. the growth is tardy and feeble. This fact, combined with the appearance of the colonies is markedly characteristic. In the structure of the colonies a resemblance is seen to those of Bacillus anthracis, and in a less degree to certain strains of Bacillus subtilis.

1. Whey agar plates[1]). The following description is applicable to all the organisms studied with the exceptions as noted:

Growth was first noted at the end of 24 hours at 37,5°. Colonies are then minute: a) Surface: at 48 hours about 0.25 to 1.0 mm. diameter, irregular, filamentous, curled, flat, weakly refractive; with low magnification the structure is found to consist of a mass of curled filaments, often in parallel strands, as in Anthrax colonies, often streaming; are translucent, tinged slightly bluish by reflected light and showing bluish white flocks or islands more or lese rectangular in form. The medium is slightly clouded immediately about the point of growth. No tenacity to the surface is shown. b) Subsurface; Minute woolly tufts, delicate not dense, composed of hair-like processes radiating from the center which is yellowish by transmitted light. Exceptions: Strains 6a—1, 7a—1, 7a—2, IX—1 show a distinct, entire, even periphery. At times the growth produces no clouding of the medium. Frequently the colony appears to be nucleated, the center is darker in color and has a slight elevation, being umbonate in character. This feature becomes more apparent as developement progresses. The nucleus may be surrounded by a comparatively clear zone and this in turn by a bluish white filamentous border. No chromogenesis is observed. A sour odor is noticeable after 48 hours incubation. (See plates V. VI.).

While the growth on whey agar furnishes no points of type differentiation yet it serves to definitely separate these organisms from all bactera not included in the group Bacterium caucasicum. The resemblance to Bacillus anthracis, and in a way to Bacillus subtilis, although borne out to a slight degree by the morphology is no more than interesting. Luerssen and Kuhn consider that the growth of the Bacillus bulgaricus in the form of round regular colonies having a smooth periphery is diagnostic of this type. In the present instance it was observed only in those strains which had been subjected to cultivation in pure culture for a period of a year or more. Since it was never observed in the other organisms of type A it might seem that this was a casual or acquired character.

2. Whey agar stabs. The growth first appears at the end of 24 hours in the upper part of the stab as a woolly filament. At the end of 48 hours the developement progresses downward, delicate hair-like proccesses extend laterally from the line of growth and the medium becomes sligthly clouded. After 3 days incubation the growth is marked along the entire line of inoculation and becomes arborescent with dense clouding of the agar. The surface is scanty with little spreading and is nearly transparent. Further incubation intensifies these characteristics without causing the appearance of further distinguishing features.

None of the strains studied showed any marked variation from the above. This growth would seem to constitute a group characteristic.

3. Whey gelatine plates. (10% gelatine.) — Owing to the comparatively low incubating temperature necessitated, this medium is poorly adapted for the cultivation and differentiation of this class of bacteria. In several experiments the only strains showing growth were Bulg, B. M., 6a—1, 7a—1, 7a—2 and IX—1, and in each case after long incubation at 25° to 27° the colonies were minute, although a microscopic examination showed their structure to be identical with that of the whey-agar colonies. No growth was observed before six days while all freshly isolated strains failed to develop.

4. Whey gelatine stabs. At first no growth whatever was observed in the case of the organisms of type B, although repeated attempts were made to cultivate them in this manner. Later, after continued cultivation in milk a slight tendency toward growth was manifested, which never exceeded a

---

[1]) In this series as in all others unless special mention is made the medium was inoculated from a 24 hour whey culture planted in turn from a 24 hour milk culture. The medium contained 2 per cent agar.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

faint tracing in the gelatine. With the strains of Type A, a distinct but variable growth was obtained, which may be described thus:

At the end of from four to seven days at 25° a faint line is noticed along the track of the stab. This appears as a finely beaded filament which on further incubation extends downward. In the lower half of the growth single colonies appear which are spherical and whitish in color. The bead-like colonies become mossy and from these mycelioid projections extend laterally. When the colonies are closely segregated the growth apdears markedly arborescent, while single beads are beautifully echinate. (See Fig. 1.)

The greatest adaptability to this medium was shown by Led, B. K. and P. K.. Surface growth, gas production or liquefaction were never observed. The medium was not clouded.

The filamentous character of these colonies is analogous to their appearance in agar stabs and is distinctive of the group, although not of the type. The variations noted are probably referable to cultural influences and may be developed by long cultivation.

5. Whey. At the end of 24 hours at 44° a slight, diffuse clouding of the medium is observed. At 37.5° the appearance of the cloud may be delayed until 48 hours or even later. Strains of the B type show the heavier growth. Of type A 6a—1, 7a—1, 7a—2, IX—1 and XXIV—1 are the most vigorous. In cultures of this type the cloud is composed of a suspension of macroscopic particles while the appearance of those of the second type resembles that seen for example in bouillon cultures of B. coli. The most intense clouding appears during the second 24 hours at 44°. Directly after the height of the growth has been attained the A cultures begin to clear. The suspended particles collect in large flocks adhering to the walls of the tubes and some fall to the bottom forming a grayish white sediment. Between the sixth and eighth day the medium is entirely clear, complete sedimentation of all suspended matter having taken place. In cultures of type B this turbidity persists for a longer time usually until the twelfth to fourteenth day. No pellicle is formed.

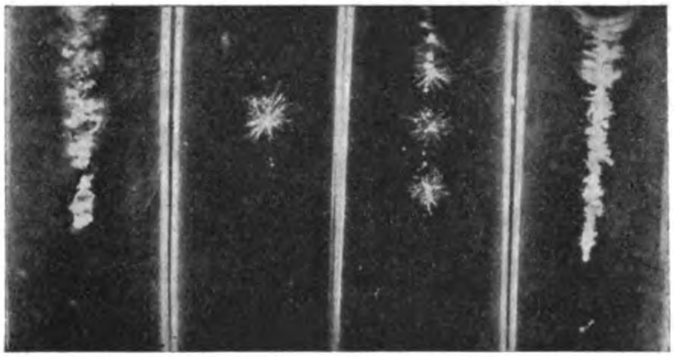


Fig. 1. 21 day whey gelatine stab cultures Led, B. K., P. K., IX—1. Natural size.

Although these variations may be ascribed to degrees of vigor, they are constant in each case and tend to emphasize the type differentiation indicated by the other described features.

6. Potato. Slants were cut in the usual way. In some instances the potato was merely washed in distilled water, in others immersed in soda solutions of different dilutions for varying lengths of time. Therefore both acid, neutral and alkaline strata were provided. The medium was heavily inoculated with either a 24 hour whey culture or a 24 hour milk culture. In repeated attempts at 25°, 37.5° and 44° no demonstrable growth was obtained with any of the sixteen organisms.

The results in this case although confirming the observations of Grigoroff, Rist and Khoury, and Cohendy, are contrary to those obtained by Luerssen and Kuhn, who describe the growth on potato as a constant and distinguishing character of the Bacillus bulgaricus. The failure to grow on this medium is in agreement with the behavior of organisms of the Bacterium caucasicum group.

7. Milk. When inoculated with young cultures and incubated at 37.5° to 44° milk is rapidly coagulated into a firm solid curd by all the strains studied. The coagulum produced showed slight variations due to the composition of the milk, and to the amount

and nature of the material used for inoculation. The curd was solid, with no shrinkage or cavities, and was accompanied by the expression of a few drops of clear whey. Thickening appears first in the lower part of the tube. The production of gas, or an appreciable peptonisation of the curd were never observed even after several months preservation.

Strains Bulg. and Led. at times produced a viscid curd, often increasing to sliminess. This character was repeatedly lost and regained, and was peculiar solely to these two organisms. When litmus is added to the milk the change from blue to red is abrupt and intense, the curd assuming a deep pink hue. Coagulation takes place in 6 to 12 hours at 44° to 45°, in 8 to 16 hours at 37.5° and rarely before 9 to 12 days at 25°. At the last named temperature coagulation was noted on lyin type A. cultures. Tubes inoculated with the strains comprising type B. were observed for 31 days at room temperature and in no case had any change taken place. On the thirty-second day these tubes were incubated at 44° and at the end of 18 hours all showed typical coagulation. From these cultures further successful inoculations were made, showing that although growth was inhibited at 25° yet the bacteria remained viable during this period. In a similar series of tubes embracing the 16 strains inoculated and allowed to remain for 31 days at refrigerator temperature the milk remained unchanged. When incubated at the expiration of this period of exposure all strains produced coagulation within 40 to 48 hours.

Two of the points of type differentiation mentioned by Luerssen and Kuhn are contradicted by the above observations. First, in the present instance the organisms of type A. produced coagulation slightly more rapidly than did those of type B. (comparable to the Körnchenbacillus) while the nature of the curd produced by both was precisely the same. Second, the strains of the former type, though showing a marked preference for higher temperatures, still multiplied and produced coagulation at 25°, while those of the latter type remained inactive. The viscosity noted in two strains is a phenomenon previously observed by Sewerin. This feature as developed by Bacillus casei has recently been studied by Burri and Thöni. This bacillus however, exhibits this peculiarity only when grown in symbiosis.

8. Other media. When freshly isolated from their natural symbiotic environment no growth is obtainable on the ordinary media. After a year's solitary cultivation in milk these bacteria show an increased vitality and adaptation to foreign environment. Recently a feeble growth has been obtained on nutrient agar in the case of strains of type A. The same agar enriched with 2% lactose, strange to say, was less favorable, while the addition of the same amount of dextrose resulted in the development of many large typical colonies by all 16 strains. In bouillon, lactose bouillon, and dextrose bouillon no growth was observed. However, if calcium carbonate be added to the last named medium these organisms grow well[1]). The synthetic medium of Uschinsky containing 2% dextrose or lactose remained unchanged. An extract of malt prepared according to the formula of Cohendy furnishes an excellent medium for the cultivation of bacilli of this group. It may be substituted for whey in the preparation of agar and gelatine. In lactose bile enriched with peptone a feeble though constant growth was observed with all strains. This lack of inhibitory power on the part of the bile is interesting in relation to the persistence and growth of these bacilli in the human intestine following internal administration. The growth in this medium is unaccompanied by gas formation.

Observed in whey ,malt and milk and on whey agar and whey gelatine no differences were noted in the growth under aerobic and anaerobic conditions.

---

[1]) This medium was suggested by Dr. Garside of New York City.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

III. Physical and biochemical Features.

1. Fermentation.

a) Whey in Smith tubes: — Good growth observed in both arms. No production of gas.

b) Other media: — Grigoroff states that the Bacillus bulgaricus attacks mannite, saccharose, maltose and lactose, but not rhamnose, dulcite or sorbite, but the nature of the medium he employed could not be ascertained. Cohendy observed the active fermentation of lactose, maltose, saccharose, levulose and particularly dextrose. Since the completion of the present work Bertrand and Duchacek report that the carbohydrates fermented by Bacillus bulgaricus are dextrose, mannose, galactose, levulose and lactose, while arabinose, xylose, sorbose and saccharose are not attacked. Mannite is not transformed into lactic acid.

In the present instance many attempts were made to discover a suitable medium with which the action of these bacilli upon the various carbohydrates could be studied. Among the different nutrient substances tested were peptone prepared from casein and of other origins, serum waters, the medium of Barsiekow and a similar solution of Eucasein. In all cases there was a marked acid production from dextrose and lactose, but the results obtained with the other carbohydrates were too variable to warrant any definite conclusions.

2. Indol. Whey cultures of different ages were tested by several methods. Negative results were constant.

3. Toleration of acids. Since the members of types A and B produce exceptionally large amounts of lactic acid, their toleration seems to be limited only by the maximum acidity produced in each case, beyond which they are unable to utilize further the residuum of unaltered sugar in the medium. This acid toleration may be made use of in isolating these organisms from material containing other bacteria. Such a separation may be accomplished by adding to the medium a quantity of acid sufficient to inhibit the developement of foreign species. Leva found that the addition of 0.35 per cent lactic acid to Cohendy agar facilitated the isolation of Bacillus bulgaricus from the feces of patients after therapeutic administration. More recently Heinmann and Hefferan report the successful isolation of this organism from various soucres by adding 0,5 per cent glacial acetic acid to glucose bouillon.

4. Vitality. In addition to the observations on the behavior of these bacilli in milk it made be further stated that their vitality varies inversely with the period of incubation temperature, but directly with the length of time of special cultivation. Cultures in malt and whey display a greater degree of longevity than do those in milk. In the former case viable cultures have been obtained at the end of three months.

5. Thermal death-points. **Methods: a) 48 hour whey cultures were immersed in a water bath for the designated period and transplants were immediately made into milk. b) Tubes of whey were inoculated with a definite amount of an active whey culture and after subjection to the various temperatures were then incubated.** A minimum exposure of 15 minutes to 60° was necessary to kill all strains.

6. Dessication. In a dry condition the vitality is greater than in milk. Whey and milk cultures dessicated over sulphuric acid in a vacuum were found to be still viable after a lapse of four months. Considering their short

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

survival in milk and the absence of a capsule or spores, their resistance in this case would seem to present an anomaly.

7. Enzymes. The addition of calcium carbonate, calcium chloride, and zinc chloride in excess of the amount required to neutralize the acid produced, falied to prevent coagulation of the milk. This might argue for the presence of an enzyme. It is hoped to continue studies in this direction.

8. Acid production.

a) Milk: Methods: Tubes containing 10 cc. each of decreamed milk were sterilized and then incubated for 48 hours at 37.5° and allowed to stand for several days at room temperature to insure sterility. All tubes in each series were filled from the same lot of milk. These tubes were inoculated with 0,05 cc. of a 24 hour milk culture and incubated for the determined periods in a moist atmosphere. At the end of these periods 5 cc. of the milk was diluted with about 45 cc. of water, then brought to the boiling point and titrated with $^n/_{10}$ NaOH, with phenolphthalein as indicator. Each series included two or more control tubes of the same sample of milk incubated and titrated under similar conditions. The titre of the control in each case was subtracted from the titre of the corresponding inoculated tubes. Whey cultures were similarly inoculated, controlled and titrated. The figures in the tables represent the quantity of $^n/_{10}$ NaOH required to neutralize 10 cc. of inoculated milk.

Table I. Acidity produced in milk at 37,5°.

	6 hrs.	12 hrs.	18 hrs.	24 hrs.	36 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	5 days	7 days	10 days
Type A.	0.66	5.51	14.29	18.40	22.77	27.27	29.98	33.21	33.77	34.34
Type B.	0.69	3.54	5.53	5.08	6.21	7.54	9.52	11.38	9.74	11.13

Table II. Acidity produced in milk at 44°. Series 1.

	6 hrs.	12 hrs.	18 hrs.	24 hrs.	36 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	5 days	7 days	10 days
Type A.	2.62	11.91	17.78	21.79	24.37	25.70	25.01	27.84	28.47	27.84
Type B.	2.82	3.98	5.56	6.44	6.80	9.49	9.46	8.88	13.72	12.04

Table III. Acidity produced in milk at 44°. Series 2.

	6 hrs.	12 hrs.	18 hrs.	24 hrs.	36 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	5 days	7 days	10 days
Type A.	0.71	6.96	16.59	19.90	22.42	24.37	23.96	26.09	27.72	—
Type B.	0.36	3.12	10.53	12.60	11.60	12.14	12.45	14.06	15.70	—

Table IV. Acidity produced in whey at 44°.

	6 hrs.	12 hrs.	18 hrs.	24 hrs.	36 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	5 days	7 days	10 days
Type A.	0.66	2.17	4.07	4.25	4.58	—	5.71	5.58	6.90	6.05
Type B.	0.65	2.00	3.29	5.19	5.82	—	5.58	6.02	5.89	5.75

The accompanying charts offer a more graphic representation of the acid production in milk and whey.

An examination of these tables and charts would seem to permit the following inferences;

A. In both types the acid production in milk is slower at 37,5° than at 44°.

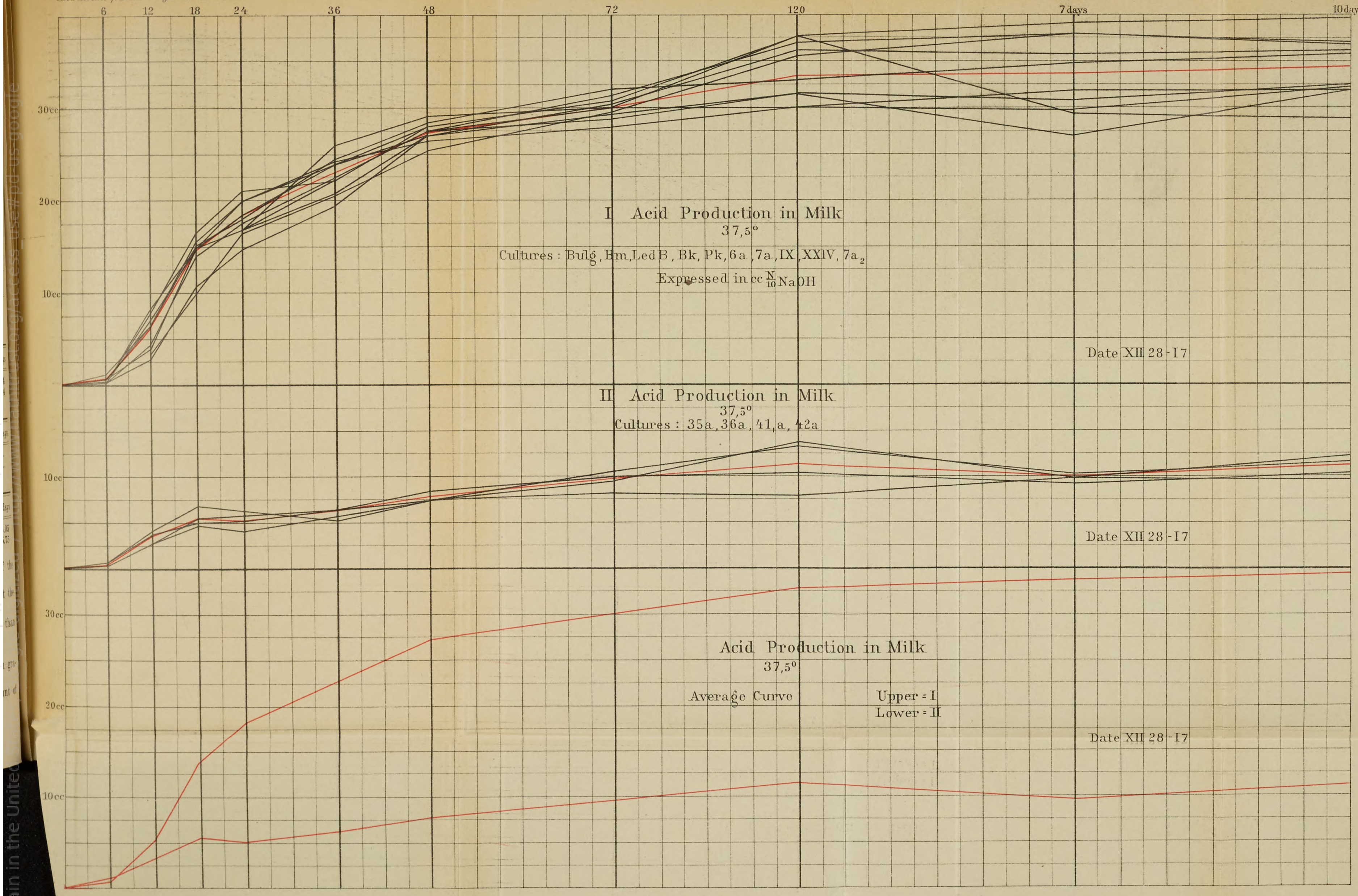
B. A higher degree of acidity is attained at 37.5°.

C. The acid production is most active in the first 24 hours, then gradually rises, reaching a maximum about the seventh day.

D. The bacilli of type A without exception elaborate an amount of

Centralblatt f. Bakteriologie Abt. II. Bd 25.

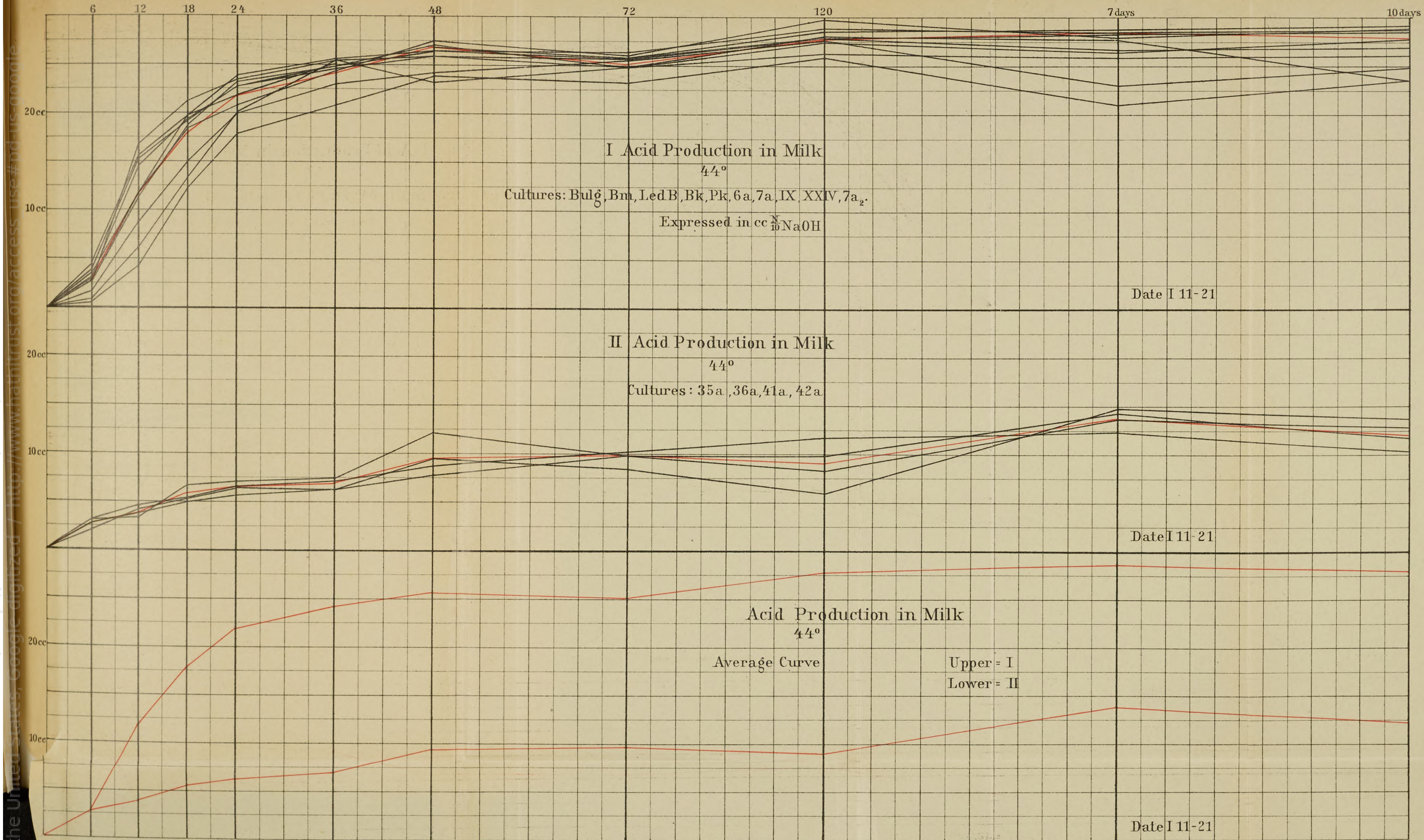
White u. Avery, Lactic Acid Bacteria. Tab. I.



White & Avery.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.



I Acid Production in Milk
44°
Cultures: Bulg, Bm, Led B, Bk, Pk, 6a, 7a, IX, XXIV, 7a$_2$.
Expressed in cc $\frac{N}{10}$ NaOH

Date I 11-21

II Acid Production in Milk
44°
Cultures: 35a, 36a, 41a, 42a

Date I 11-21

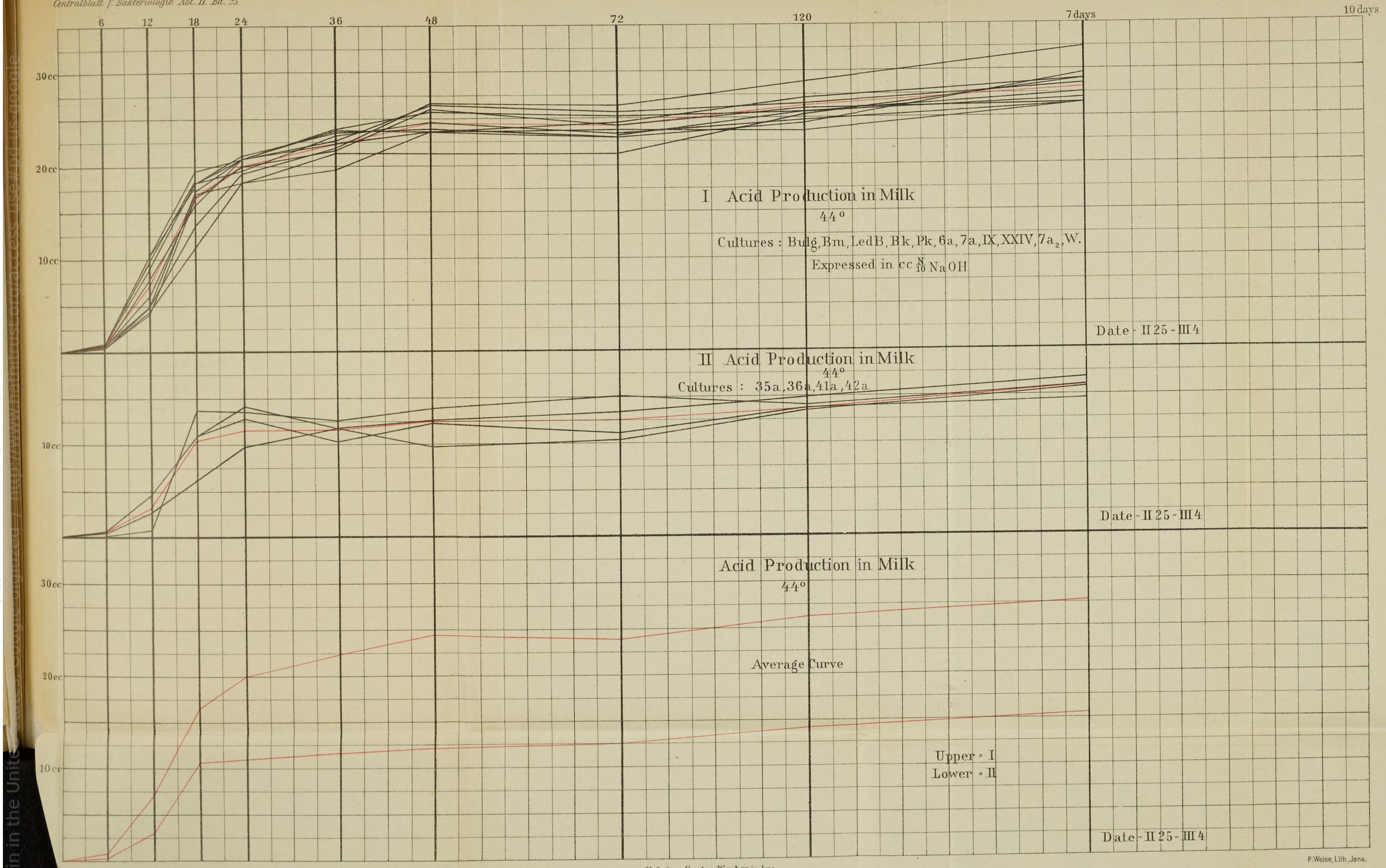
Acid Production in Milk
44°
Average Curve
Upper = I
Lower = II

Date I 11-21

White & Avery.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

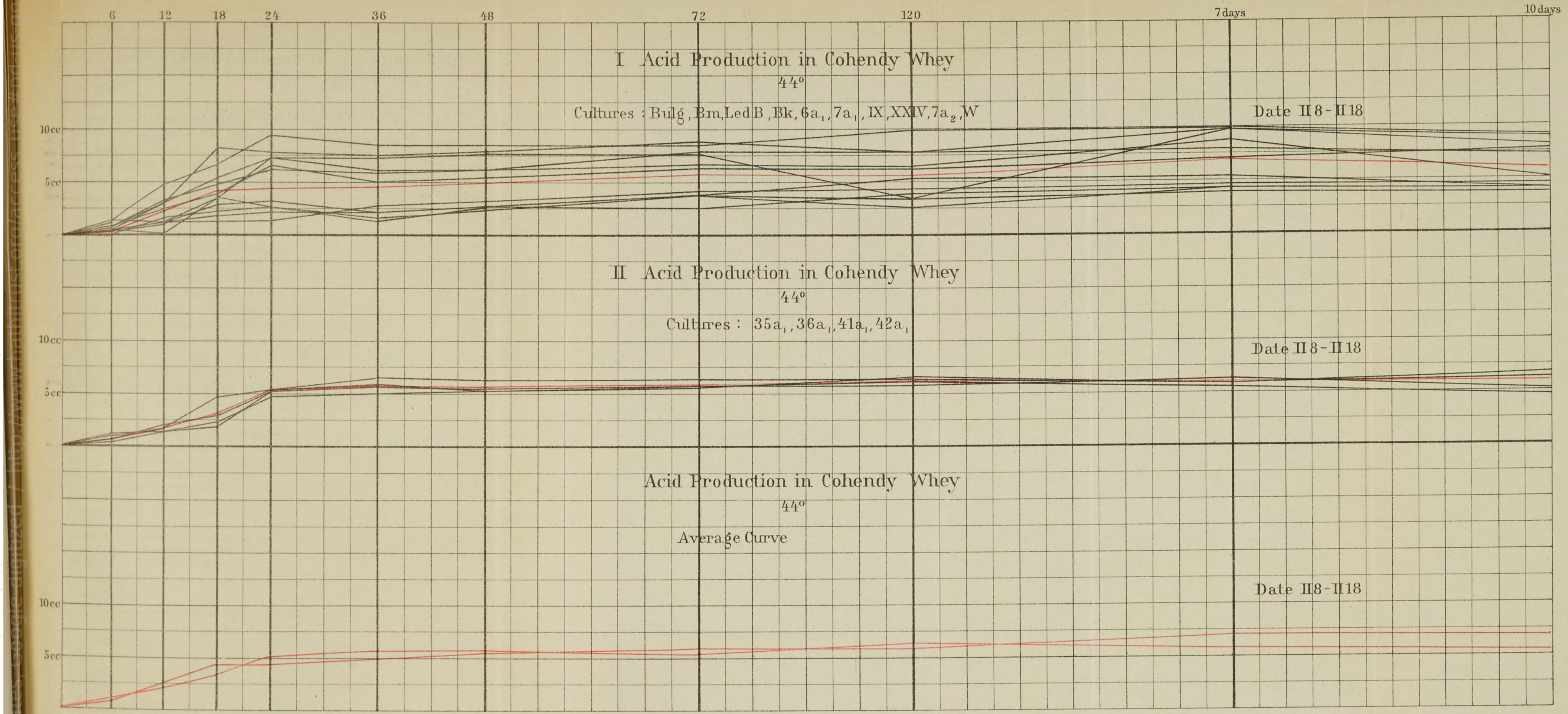
P. Weise, Lith., Jena.



White & Avery.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.



White & Avery.

Verlag von **Gustav Fischer** in Jena.

P. Weise, Lith., Jena.

acid equal to about twice the amount produced by the strains of Type B. This would seem to constitute an important type difference hitherto unnoted.

E. No significant differences between the types or strains are shown in the acidity produced in whey. The small amout of acid formed in this medium is in marked contrast to the quantity found under analogous conditions in milk.

10. Acids produced.

A. Lactic acid: The statements of various authors regarding the nature of the lactic acid produced by this group of organisms show a discordance referable partly to the methods of analysis employed as well as to inherent differences exhibited by separate species. Grigoroff reports that both the Bacillus A and the Streptobacillus C produce inactive acid, but the method of determination is not given. From a 5 day culture of the Bacillus bulgaricus Bertrand and Weisweiller isolated the lactic acid by means of the zinc salts and conclude that the acid produced was a mixture of the laevo and dextro modifications with a predominance of the latter. In quoting from the work of Luerssen and Kuhn certain authors have erred in stating that they found only the dextrorotatory modification in cultures of the Bacillus bulgaricus and Körnchenbacillus. In the original publication it is specifically mentioned that "the whey turns the plane of polarized light to the right". This can scarcely be interpreted as indicating the presence of dextro-rotatory lactic acid. Bertrand and Duchacek find that the Bulgaricus produces exactly equal amounts of both the right and left acids, and that this action is due to an intracellular lactase. The strains studied by Heinemann all produced the inactive type without a trace of active acid.

In the present investigation the following method was adopted;

The whey obtained from 500 cc. of the milk culture was acidified with phosphoric acid 5 volumes of water free ether were added, then thoroughly agitated in a shaking apparatus. This step was repeated five times and, after an exact separation from the whey, the ether extracts were united and eva porated to dryness in vacuo at 45°. The residue was taken up in water, the solution clarified by filtration through animal charcoal, and after the addition of an excess of zinc carbonate it was boiled and filtered. After concentration on a water bath the solution was allowed to stand. The crystals formed were removed by filtration. Further crops of crystals forming in the successive filtrates were preserved and examined separately. The determination of the water of crystallisation was accomplished in the usual manner.

The analyses of the zinc salts obtained from the whey of 24 hour milk cultures are as follows;

Culture Type A.	Per cent water	Calculated for $Zn(C_3H_5O_3)_2 + 3\,H_2O$	Culture Type B.	Per cent water	Calculated for $Zn(C_3H_5O_3)_2 + 2\,H_2O$
XXIV—1	18.21	18.18	35a—1	12.77	12.90
Bulg	18.21		36a—1	12.91	
B. M.	18.11		41a—1	13.04	
Led	18.60		42a—1	13.05	
B. K.	18.40		K	12.88	
P. K.	17.93				
6a—1	18.04				
7a—1	18.20				
7a—2	18.12				
IX—1	18.02				
W	18.10				

Concentrated solutions of these salts were prepared and their rotatory power determined.

In the case of all the strains of type A the solutions exhibited rotations too slight to be of any significance. The solutions from type B, on the other hand, showed a marked rotation to the right, therefore demonstrating the production of the laevo-rotatory acid.

The crystals separated from subsequent fractions from the 24 hour cultures of strains of both types had the same composition and rotatory power as the initial crystals.

A series of observations was made on cultures incubated 7 days, 14 days, 21 days and 30 days respectively at 44°. An unvarying production of the inactive acid alone was noted in all the strains of type A. The type B organisms, 24 hour cultures, showed a production of the active acid. In 7, 14, 21, and 30 day cultures of strains of this type, the crystals obtained represented approximately equal amounts of the inactive and active acids.

The variations in this feature of the activity of the bacilli of the two types are tentatively considered as constituting a further point of type differentiation.

B. Other acids: The acids already demonstrated in cultures of the Bacillus bulgaricus are acetic, formic and succinic acids (Bertrand and Weisweiller, Bertrand and Duchacek). Heinemann finds that the volatile acids constitute 5. 8 to 6. 1 per cent of the total acidity.

All the strains observed in the present instance produced a small amount of volatile acid. The exact amount and the nature of the acids were not determined.

Although the bacilli of these types have little or no action on the casein and fat in milk, yet they produce a bitter, acrid taste and odor which may be due to minute quantities of products formed in the cleavage of these substances. This peculiarity was lacking in cultures of type B organisms.

11. Other products. Grigoroff reports the formation of a trace of alcohol by the Bacillus A and the Streptobacillus C. This substance was also found by Gourbet, while Luerssen and Kuhn note that 24 hour whey cultures of the Bulgaricus and Körnchenbacillus gave positive iodoform reactions.

A series of experiments included the distillation of the whey (after faint alkalization with sodium carbonate) from 10 day milk cultures of the strains of types A and B. These distillates all contained small but appreciable amounts of alcohol but no acetone or aldehyde.

12. Pathogenicity. These organisms are non-pathogenic to man and the usual laboratory animals. No untoward effects in man have been observed following the ingestion of large amounts of whey and milk cultures.

Summary.

The principal characters common to all the strains studied as compared to the characters distinctive of the group Bacterium caucasicum as noted by Löhnis are as follows;

Strains of types A and B.	Group Bacterium caucasicum L. et N.
Great variability of cell form.	Great variability of cell form.

Length = 2 μ to 50 μ or more.	Length = 2 μ to 50 μ or more.
Breadth = generally about 1 μ.	Breadth = 0.3 μ to 1.20 μ
Chain formation marked in some strains.	Chain formation not unusual.
Longer and slenderer forms seen in older cultures in milk.	Favorable conditions result in the appearance of more slender forms.
Non-motile, non-sporulating.	The absence of motility and spore formation is apparently constant.
Viable bacilli are Gram positive, dead and involution forms Gram negative.	With the exception of the dead and involution forms all bacilli of the group are Gram positive.
Difficult to cultivate, growth in most media feeble.	The intensity of growth is mostly slight and is dependant on the natur of the medium.
Freshly isolated, growth is obtainable only on media containing whey or malt, and in milk.	On the usual meat pepton media, as well as on potato, particularly in thecase of freshly isolated strains no growth takes place.
Grow equally well under aerobic and anaerobic conditions.	The disinclination to grow in the presence of free oxygen is marked.
Optimum temperature for growth is 44°—45°. Fair growth at 30°, slight at 25°, none at 20°.	For many forms the optimum lies between 40° and 50°, the minimum at 25°, while other members of the group are able to grow tolerably well at 20° and under.
Colonies on whey agar are round to irregular, grayish white, 0,5—1,5 mm., curled, filamentous structure, periphery mostly filamentous, often streaming, in a few cases smooth and even.	Colonies are white or yellowish white, mostly smaller than head of a pin. Periphery is either circular, even or sinuate, lobed at times with root-like ramifications.
Gelatine not liquefied.	So far liquefaction of gelatine has never been observed.
No surface growth on gelatine stab cultures. Along the stab the	The gelatine stab cultures show typically no surface growth.

growht is filiform, beaded, later with horizontally projecting ramifications. Medium clear.	Along the stab the growth is cuneiform, threadlike or beaded, rarely showing horizontal projections.
In agar stabs the growth is the same as above, but heavier. The medium is clouded.	Agar stab, as a rule, weakly developed. Narrow ribbon or dotted growth along stab. The presence of sugar in the agar or gelatine causes clouding.
The growth in whey produces clouding which disappears in 5 to 14 days forming a grayish white sediment.	In bouillon, when growth takes place, only a whitish sediment is observed in the clear fluid, while the addition of dextrose or lactose produces a weak to strong clouding as well as an increase in the sediment.
No growth on potato.	On potato as a rule there is no development, at best it is slight.
Milk coagulated in 8—18 hours at 44°, and is the most favorable medium for growth. Most rapid coagulation takes place at 44°.	Milk in general is coagulated more slowly than by streptococci. Some individuals grow only slightly in this medium. The optimum for coagulation lies mostly between 40° and 50°, for some 30°.
The lactic acid formed is either inactive or laevorotatory.	The lactic acid formed is mostly laevo-lactic acid, more rareley the inactive or dextro modification.
A small quantity of volatile acid is produced.	Only a trace of volatile acids are produced, if at all.
No appreciable peptonization of the curd.	Several organisms of the group peptonize casein
Non-pathogenic.	Pathogenicity has never been observed.

It will be seen that, with a few exceptions, there is a striking resemblance between the various organisms studied and those of the Bacterium caucasicum group.

Variations in the characteristics of the various strains pointing to type differentiation are —

Type A.	Type B.
With Loeffler's methylene blue or with Neisser's stain the protoplasm is homogeneously stained.	With these stains the presence of intensely staining granules may be demonstrated in the protoplasm.
Produce 2.7 to 3.7 per cent lactic acid in milk.	Produce 1.2 to 1.6 per cent lactic acid in milk.
The lactic acid formed is the inactive modification.	The lactic acid formed is always the laevo-rotatory modification.

Resume.

1. A review of the morphological, cultural and biochemical features of the lactic acid producing bacilli from Yoghurt, Mazun, and Leben appears to justify their classification as a single group.

2. This group would seem to be identical with the group Bacterium caucasicum (Kern) — Lehmann and Neumann.

3. The significant variations exhibited by these bacilli in regard to the presence or absence of granules demonstrable by differential stains, the degree of lactic acid production, and the nature of the lactic acid formed suggests a further differentiation into two distinct types. These types might be designated as the true type (Type A) and the para type (Type B).

The authors wish to express their thanks to Prof. Dr. W. Kuntze of the Landwirtschaftliches Institut der Universität Leipzig and to Dr. Besredka of the Institut Pasteur, Paris for cultures, and to acknowledge their indebtedness to Dr. Henry G. Piffard of New York for his deep interest and many valuable suggestions, as well as for the various cultures and samples of foreign sour milks which he has so graciously procured for this investigation.

Bibliography.

Kuntze: Studien über fermentierte Milch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1908. Bd. 20. p. 737.)

Grigoroff: Étude sur un lait fermenté comestible, le „Kisselo mléko“ de Bulgare. (Revue médicale de la Suisse Romande. T. 25. 1905. p. 714.)

Kern: (Bulletin de la Societé impériale des naturalistes de Moscou, 1881. No. 3.) quoted by v. Freudenreich, Bakteriologische Untersuchungen über den Kefir. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 3. 1897. p. 47, 87, 135.)

Löhnis: Versuch einer Gruppierung der Milchsäurebakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 18. 1907. p. 97.)

—: Die Benennung der Milchsäurebakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1909. p. 553.)

Beijerinck: Sur le Kéfir. (Archives neérlandaises des sciences exactes et naturelles. T. 23. 1889. p. 428.)

v. Freudenreich, see Kern.

Rist and Khoury: Études sur un lait fermenté comestible — Le „Leben“ d'Egypte. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 16. 1902. p. 65.)

Cohendy: Essais d'acclimatation microbienne persistante dans la cavité intestinale. (Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. 1. 1906. p. 364.)

Cohendy: Description d'un ferment lactique puissant capable de s'acclimater dans l'intestin de l'homme. (Compt. Rend. de la Soc. de Biol. T. 1. 1906. p. 558.)
—: Essai de traitement de l'enterite muco-membraneuse aigue par l'acclimatation d'un ferment lactique dans le gros intestin. (Compt. Rend. de la Soc. de Biol. T. 1. 1906. p. 872.)
Düggeli: Bakteriologische Untersuchungen über das armenische Mazun. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 15. 1906. p. 577.)
Grixoni: Il Gioddu. (Annali della medic. navale. Vol. 2. 1905.) Ref. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 15. 1906. p. 750.)
Weigmann, Gruber and Huss: Über armenisches Mazun. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. 1907. p. 70.)
Luerssen and Kuhn: Yoghurt, die bulgarische Sauermilch. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 20. 1907—08. p. 234.)
Rodella: Magencarcinom und Milchsäurebakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 47. 1908. p. 445.)
Piffard: A study of sour milks. (N. Y. Med. Jour. Jan. 4, 1908.)
Sewerin: Einige Ergebnisse und Bemerkungen über den sogenannten Bacillus bulgaricus und das Milchsäurepräparat „Laktobacilline". (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. 1908. p. 8.)
Burri and Thöni: Überführung von normalen, echten Milchsäurebakterien in fadenziehende Rassen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909. p. 32.)
Bertrand and Duchacek: Action du ferment bulgare sur les principaux sucres. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 23. 1909. p. 402.)
Leva: Zur Beurteilung der Wirkung des Laktobacillins und der Yoghurtmilch. (Berl. klin. Wchnschr. 1908. p. 922.)
Heinemann and Hefferan: A study of Bacillus bulgaricus. (Jour. Inf. Diseases. Vol. 6. 1909. p. 304.)
Bertrand and Weisweiller: Action du ferment bulgare sur le lait. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 20. 1906 p. 977.)
Lehmann and Neumann: Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 4. Aufl. 1907.
Gourbet: Notes sur la fermentation du Yoghourt. (Compt. Rend. de la Soc. de Biol. T. 60. 1906. p. 495.)

Explanation of plates.

Tafel I.

Fig. 1. 48 hour (44°) whey culture, IX—1, Gram stain, showing nodules. 1 : 1500.

Fig. 2. 24 hour (44°) whey culture, XXIV—1, Gram stain, showing chain formation. 1 : 1500.

Fig. 3. 48 hour (44°) milk culture, 35a—1, Loeffler methylene blue, showing metachromatic granules. 1 : 1500.

Fig. 4. 48 hour (44°) milk culture, 36a—1, Neisser stain, showing metachromatic granules. 1 : 1500.

Tafel II.

Fig. 5. Colony of XXIV—1, whey agar plate, 7 days (44°). 1 : 70.

Fig. 6. Same showing margin of colony. 1 : 350.

Nachdruck verboten.

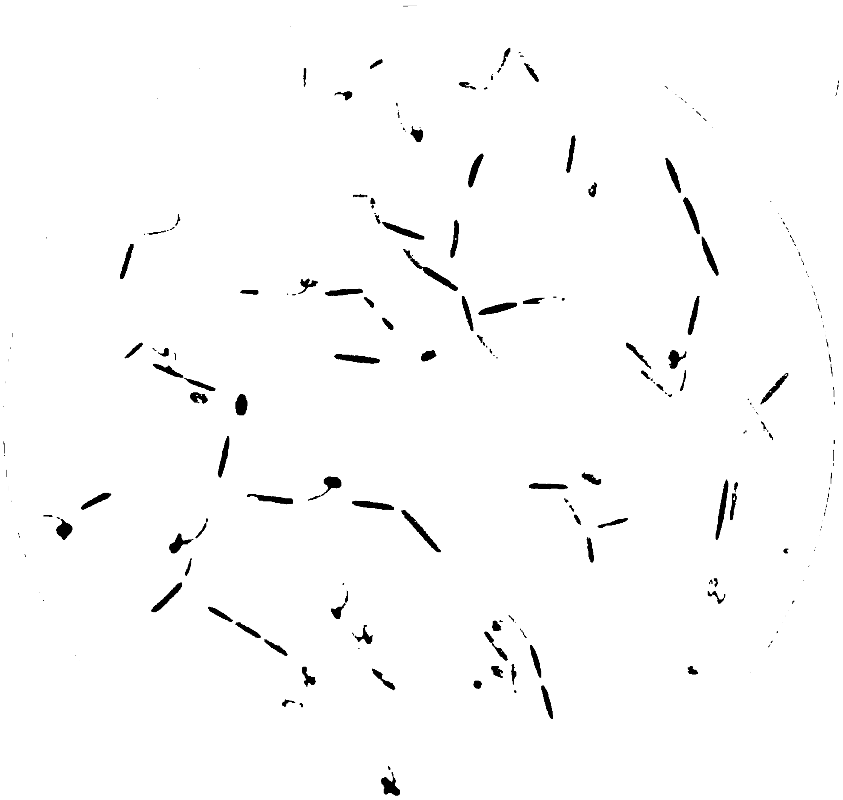
Vergleichende Untersuchungen über die Myxobakteriazeen und Bakteriazeen, sowie die Rhodobakteriazeen und Spirillazeen.

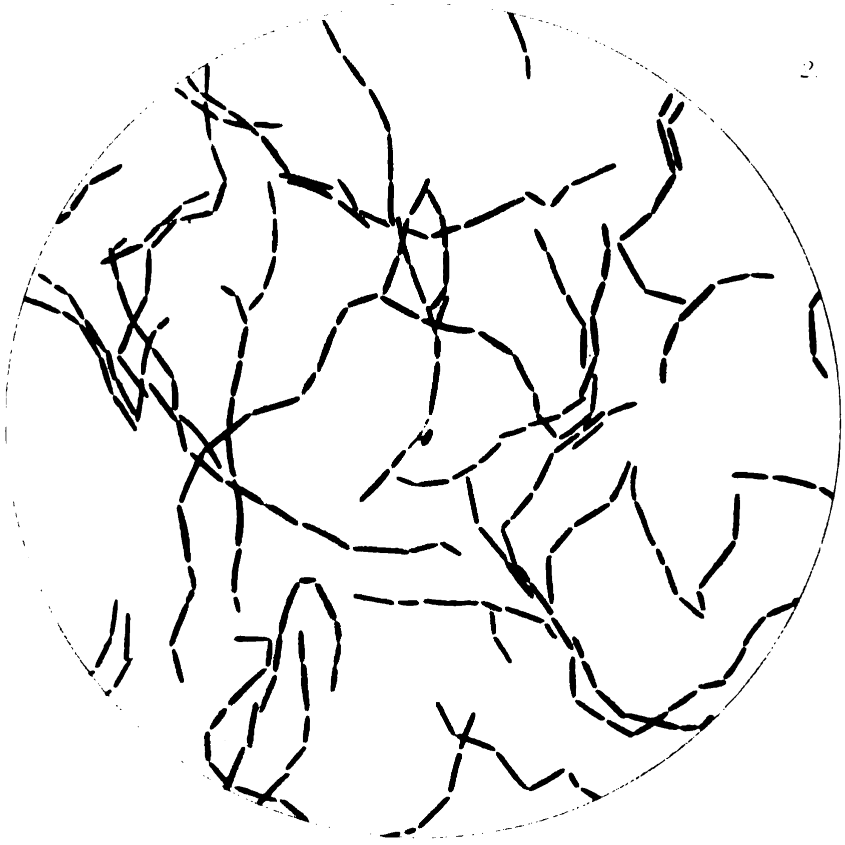
[Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg.]

Von **Carl Vahle.**

Mit 2 Tafeln.

Vorliegende Arbeit ist im Laufe der Jahre 1906—1909 unter Leitung des Herrn Prof. Arthur Meyer im Botanischen Institut der Universität Marburg entstanden. Sie hat in ihrer Gesamtheit die Aufgabe, die Verwandt-

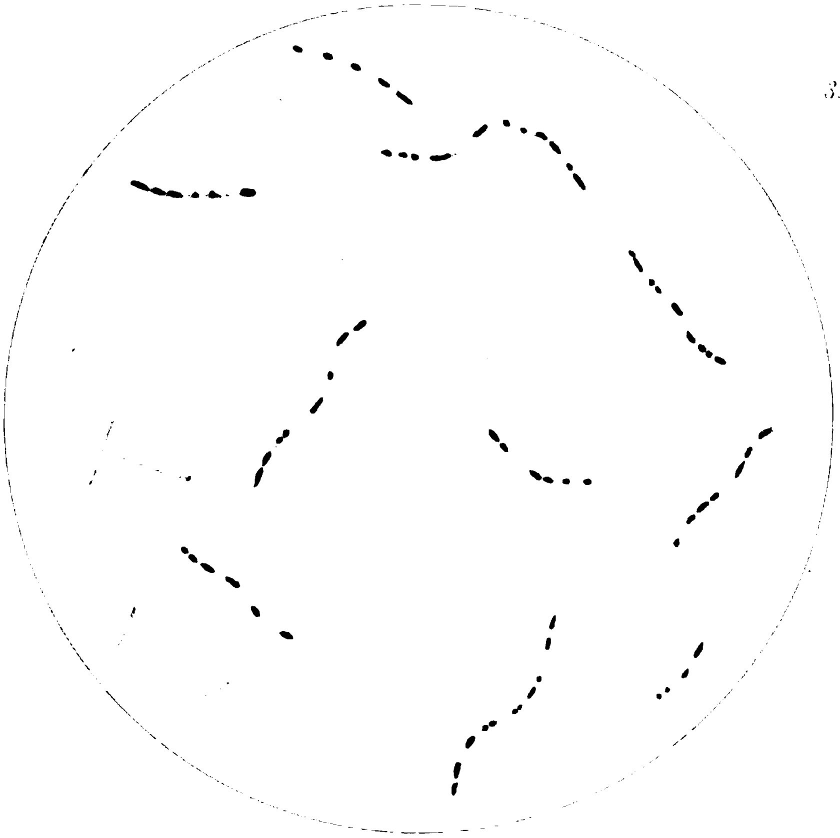




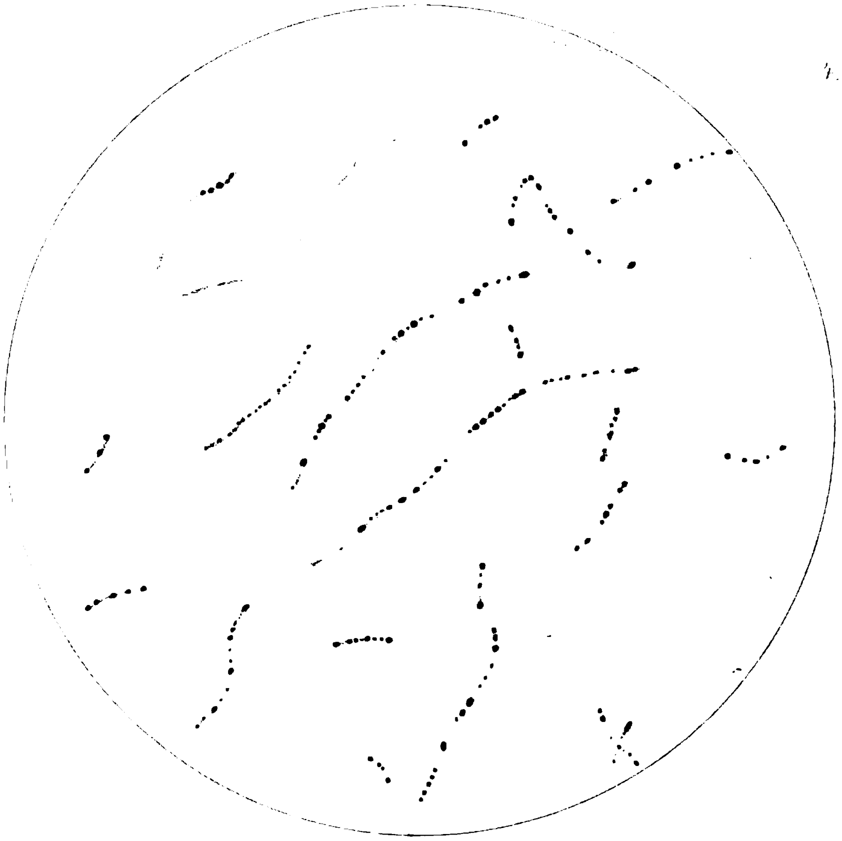
2

Verlag von Gust

3.



4.



Fischer in Jena
P. Weise Lith. Jena

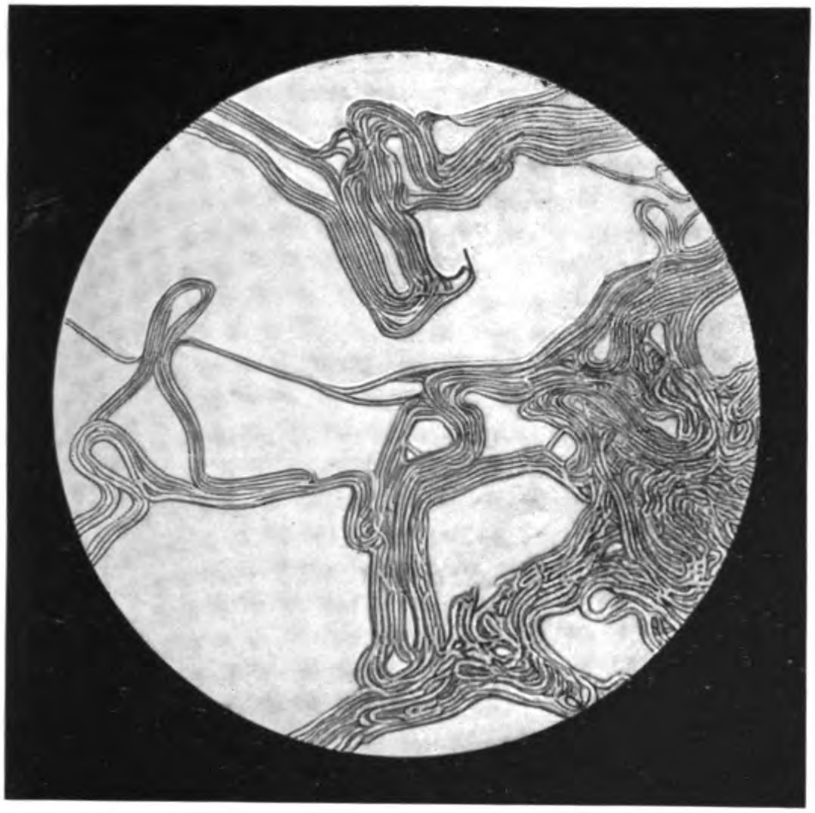


Fig. 6. Margin of colony shown in Fig. 5. × 350.

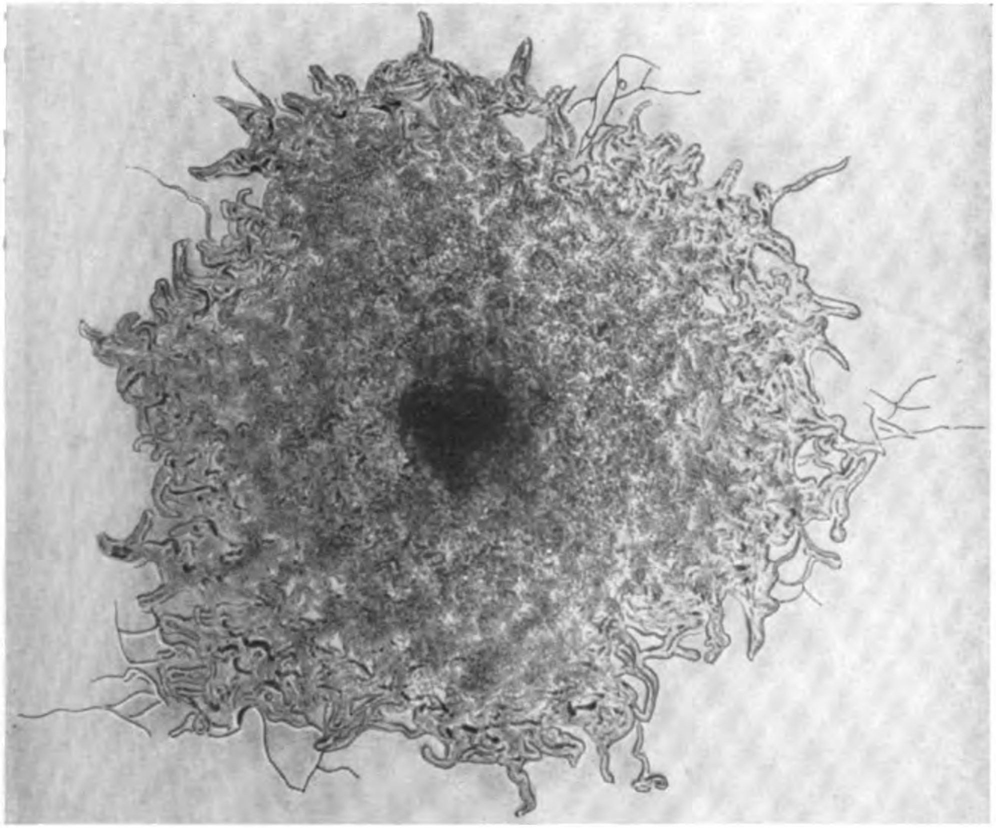


Fig. 5. 7 day (44°) colony XXIV—1, whey agar plate. × 50.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

schaftsbeziehungen einerseits zwischen den Myxobakteriazeen und Bakteriazeen, andrerseits zwischen den Rhodobakteriazeen und Spirillazeen zu untersuchen. Sie zerfällt in die Kapitel: I. Vergleichende Untersuchungen über Mxyobakteriazeen und Bakteriazeen. II. Vergleichende Untersuchungen über Spirillum rubrum Esmarch und Spirillum volutans Kutscher.

I.

Vergleichende Untersuchungen über die Myxobakteriazeen und Bakteriazeen.

Die 1892 von Thaxter entdeckten Myxobakterien sind durch die Untersuchungen dieses Forschers (1892, 1897, 1904), sowie durch die Arbeiten von Baur (1905) und Quehl (1906) im Verhältnis zu manchen andern Gruppen niederer Organismen gut bekannt geworden. Nicht zum wenigsten verdanken die Myxobakterien dieses ihrer Eigentümlichkeit, Fruchtkörper zu bilden, die für die einzelnen Spezies sehr charakteristisch sind.

Wenn mich Herr Prof. Arthur Meyer veranlaßte, auf Myxobakterien, die von ihm und seinen Schülern ausgearbeiteten bakteriologischen Untersuchungsmethoden anzuwenden, so geschah es weniger zur besseren Charakteristik der Myxobakterien als zur Entscheidung der Frage, ob die Myxobakterien und Bakterien in ihren Grundeigenschaften so weit übereinstimmen, daß man berechtigt ist, sie als tatsächlich verwandt miteinander zu betrachten.

Ich verglich also zuerst einige Myxokakterien mit den Bakterien, hauptsächlich mit Bac. oxalaticus Kuntze, den ich eingehender untersuchte. Herr Prof. Löhnis-Leipzig war so liebenswürdig, mir diesen Organismus in Reinkultur zu überlassen.

Später zog ich zu meinen Untersuchungen auch eine Akrasieenspezies hinzu, um durch direkte Vergleichung zu entscheiden, ob einige morphologische Ähnlichkeiten zwischen Myxobakterien und Akrasieen aufzufinden seien. Von den mir von Herrn Dr. Jahn-Berlin und Herrn Dr. Pinoy-Paris freundlichst zur Verfügung gestellten Akrasieenspezies benutzte ich Polysphondylium violaceum Brefeld.

Von Myxobakterien verwandte ich zu meinen Untersuchungen außer einigen Myxococcus-rubescens-Rassen und Myxococcus virescens, die sich mir als keine geeigneten Laboratoriumspflanzen erwiesen, Myxococcus ruber Baur, Chondromyces crocatus Berkeley und Curtis, Polyangium fuscum Schröter.

Myxococcus ruber bezog ich aus der Sammlung der Association International des Botanistes Utrecht. Dieser Organismus wurde von Baur reinkultiviert und der genannten Sammlung übergeben. Quehl betrachtet ihn als eine Rasse der Spezies Myxococcus rubescens Thaxter, ich habe aus praktischen Gründen in meiner Arbeit die Bezeichnung Myxococcus ruber beibehalten.

Chondromyces crocatus verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Thaxter-Cambridge, der mir den Organismus in Rohkultur sandte.

Polyangium fuscum stammt von Herrn Dr. Baur-Berlin, von dem Herr Prof. Meyer es in Rohkultur erhielt und mir zur Verfügung stellte.

Eine kurze Charakteristik der Myxobakterien gibt Thaxter (1892) in der Einleitung seiner ersten Arbeit über die Myxobakterien. Die wenig ausgedehnte Literatur über die Myxobakterien findet sich bei Quehl (1906) zusammengestellt. Außer den Arbeiten Thaxters (1892, 1897, 1904), Quehls und Baurs (1905) bedeuten die übrigen Mitteilungen keine wesentlichen Beiträge zu unserer Kenntnis über diese interessante Pflanzengruppe.

A. Untersuchungen über die Myxobakterien.

1. Nährböden.

a. Flüssige Nährböden.

Gut kontrollierbare konstante Nährlösungen.

Wie sich schon aus den Versuchen Baurs (1905, p. 118) ergibt, der mit Agarnährböden arbeitete, beanspruchen die in dieser Richtung untersuchten Myxobakterien kompliziertere Verbindungen als sie gut kontrollierbare konstante Nährlösungen enthalten. Von derartigen Nährlösungen untersuchte ich für Myxococcus ruber Nährlösung No. IV, V, Vα, Vβ, Vγ, Vδ, VI, VII, VIII, IX, X, XI (vgl. A. Meyer 1903, p. 24). Es fand kein Wachstum darin statt.

Wegen des Gehaltes an unbestimmten Substanzen nicht genau kontrollierbare Nährlösungen.

Von diesen Substraten gestatten viele den von mir untersuchten Myxobakterien: Myxococcus ruber, Myxococcus virescens, Polyangium fuscum, Chondromyces crocatus mehr oder weniger gutes vegetatives Wachstum, nur wenige eine regelmäßige Fruchtkörperbildung.

In Nährlösung I, II, III wächst Myxococcus ruber nicht, wahrscheinlich weil die Nährstoffe hier zu konzentriert sind.

Nährlösung aus 100 ccm Wasser, 0,5 gr Pepton, 0,5 gr Dextrose: Myxococcus ruber und Polyangium fuscum zeigen starkes vegetatives Wachstum aber keine Fruchtkörperbildung.

Nährlösungaus 100 ccm Wasser, 0,1 g Pepton: Myxococcus ruber wächst vegetativ schwächer als in der vorigen Nährlösung, kommt aber zur Fruktifikation.

Größere und fester gefügte Fruchtkörper werden gebildet in Mist- und Kartoffelabkochung bestimmter Konzentration. Baur (1905 S. 114) und Quehl (1906. S. 27) erwähnen diese Substate, geben aber nichts über die Konzentration an, die, wie ich fand, auch bei diesen Nährböden, sowohl für die Intensität des vegetativen Wachstums als auch für die Ausbildung normaler Fruchtkörper keineswegs ohne Bedeutung ist. Derartige Dekokte stets in genau gleicher Zusammensetzung und Konzentration herzustellen ist unmöglich (vergl. A. Meyer 1903. S. 29). Es lassen sich aber durch Verwendung bestimmter Mengen der zu extrahierenden Stoffe und Einhalten bestimmter Regeln bei der Abkochung wenigstens bis zu einem gewissen Grade gleichmäßige Substrate gewinnen. Ich verfuhr bei der Herstellung der Dekokte stets folgendermaßen: ich kochte eine bestimmte Menge Material eine bestimmte Zeit mit einer bestimmten Menge Wasser ab, filtrierte und brachte die Abkochung auf das Volumen der angewandten Wassermenge. Ich bezeichne solche Substrate in der Weise, daß ich die zur Abkochung kommenden Gewichtsmengen angebe. Es bedeutet z. B. Kartoffelabkochung 5 + 100 ein Dekokt, das durch ½ stündiges Kochen (ich kochte in allen Fällen das zu extrahierende Material ½ Stunde) von 5 g frischer Kartoffel mit 100 ccm Wasser erhalten und, nach dem Filtrieren, wieder auf ein Volumen von 100 ccm gebracht wurde.

Kaninchenmistabkochung 3 + 100: Myxococcus ruber wächst und fruktifiziert gut darin. Leider tritt in diesem Dekokte, das nach dem Filtrieren völlig klar ist, wenn man vorher mit Eiweiß die trübenden Elemente gefällt hat, beim Sterilisieren im Dampftopf ein starker, sehr lästiger flockiger Niederschlag ein.

Kartoffelabkochung 5 + 100: Dieses Substrat bleibt, in derselben Weise wie das vorige behandelt, völlig klar. Myxococcus ruber wächst vegetativ sehr gut darin, fruktifiziert aber weniger gut als in Kaninchenmistabkochung 3 + 100. Polyangium fuscum wächst vegetativ ausgezeichnet, Fruchtkörperbildung tritt meist nicht ein.

Natürlich kann die Konzentration in den beiden zuletzt genannten Nährlösungen bedeutend tiefer liegen als angegeben, um noch ein reichliches Wachstum zu ermöglichen. Schädlicher ist es, viel konzentriertere Dekokte zu verwenden: Kaninchenmistabkochung 30 + 100: Myxococcus ruber wächst nicht darin. Kartoffelabkochung 30 + 100: Myxococcus ruber zeigt zwar kräftiges vegetatives Wachstum aber keine Fruchtkörperbildung.

Zu Versuchen, bei denen ein flüssiger Nährboden verwandt werden muß, fand ich Kartoffelabkochung 5 + 100 am geeignetsten und benutzte sie daher später ausschließlich.

b. Agarnährböden.

Es lag mir viel daran, einen Nähragar zu finden, auf dem die Myxobakterien, die ich untersuchte, wachsen und fruktifizieren wie auf ihrem natürlichen Substrat, und zwar einen solchen, der sich immer möglichst gleichartig herstellen läßt. Baur (1905. S. 119) und Quehl (1906. S. 29) geben an, daß bei Myxococcus ruber auf Mistagar mit Pepton, wenn der Peptongehalt 0,5 Proz. nicht übersteige, kräftiges Wachstum und Ausbildung regelmäßiger Fruchtkörper erfolge, sie haben aber anscheinend keine Versuche darüber gemacht, wie sich Wachstum und Fruktifikation auf reinem Peptonagar geringerer Konzentration verhalten. Quehl (S. 28) berichtet, daß Kartoffelextraktagar ein vorzüglicher Nährboden sei, ohne aber etwas über die Konzentration und Bereitungsweise zu sagen.

Ich habe gefunden, daß die auf den genannten Substraten gebildeten Fruchtkörper von Myxococcus ruber in ihrer Ausbildung nicht den auf dem natürlichen Substrat gebildeten entsprechen und nicht so beständig sind, sie fließen nach wenigen Wochen in sich zusammen und die Sporenmasse erweist sich als abgestorben. Meine zahlreichen Versuche, einen brauchbaren, einigermaßen konstant herstellbaren Agarnährboden zu finden führten zu keinem befriedigenden Resultat. Nur auf den, in ihrer Zusammensetzung natürlich sehr schwankenden, Mistagarnährböden erfolgte bei Myxococcus ruber und Polyangium fuscum eine normale Fruchtkörperbildung. — Zwar meist kräftiges vegetatives Wachstum aber entweder anormale oder überhaupt keine Fruchtkörper wiesen Myxococcus ruber und Polyangium fuscum auf den übrigen Nährböden auf, die ich versuchte:

Kartoffelextraktagar 2 + 100, 5 + 100, 10 + 100, 20 + 100, 30 + 100, Maisextraktagar (ganze Körner) 10 + 100, Maisschrotextraktagar 10 + 100, Agar mit 0,05

Proz., 0,2 Proz., 0,3 Proz., 0,5 Proz., Pepton und Agar mit 0,2 Proz. Pepton und 2 Proz. Stärke, 0,05 Proz. Pepton und 1 Proz. Stärke, 0,1 Proz. Pepton und 1 Proz. Dextrose, 0,05 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Dextrose, Dextroseagar (s. A. Meyer 1903. p. 27). Derselbe Agar ohne Dextrose; ⅓ Dextroseagar, derselbe Agar ohne Dextrose. Agar mit 0,2 Proz. Pepton und 1 Proz. Ammoniumtartrat.

Die Nährböden mit dem Stärkezusatz stellte ich mir her, um zu untersuchen, ob das kräftige vegetative Wachstum des Myxococcus ruber auf Kartoffel- und Maisextraktagar etwa von diesem Kohlehydrate herrührt. Das ist aber nicht der Fall, die Intensität des Wachstums auf Peptonagar allein ist dieselbe wie auf einem Agar mit dem gleichen Gehalt an Pepton und einem hohen Stärkegehalt. (Agar mit 0,2 Proz. Pepton und Agar mit 0,2 Proz. Pepton und 2 Proz. Stärke). Das, was für die Stärke gilt, gilt auch für die Dextrose. Quehl (1906. S. 29) gibt ja auch an, daß Dextrosezusatz zu Peptonnährböden das Wachstum von Myxococcus ruber nicht wesentlich beeinflusse. Ein Zusatz von 0,5 Proz. Dextrose zu Agar mit 0,05 Proz. Pepton bessert das schwache Wachstum auf diesem Substrat durchaus nicht. Pepton-Ammoniumtartratagar versuchte ich in der Meinung, daß vielleicht der Gehalt an Ammoniaksalzen des Mistes einen Einfluß auf die Fruchtkörperbildung ausübe, für Ammoniumtartrat trifft das nicht zu.

Von den etwas konstanteren Nährböden erwies sich ein Agar mit 0,2 Proz. Pepton noch am geeignetsten, einerseits ist bei diesem das vegetative Wachstum (Myxococcus ruber, Polyangium fuscum) relativ kräftig. andrerseits steht die Form der Fruchtkörper dem normalen Typus nicht allzufern.

Mistagarnährböden.

Die einzigen Substrate, auf denen ich eine, fast ebenso regelmäßige Fruchtkörperbildung beobachtete wie auf den natürlichen, sind Mistagarnährböden. Ich versuchte Pferde- und Kuhmistagar, es war das Wachstum hierauf aber bedeutend schwächer als auf Kaninchenmistagar. Übersteigt der Kaninchenmistagar eine Konzentration von 30 + 100, so tritt nur schwaches, meist gar kein Wachstum ein. Dasselbe ist der Fall, wenn man geringere Mistmengen, anstatt sie auszukochen, im Autoklaven aufschließt.

Am geeignetsten fand ich Kaninchenmistagar 10 + 100. Ich habe aber die Erfahrung gemacht, daß ein solches Substrat keineswegs immer brauchbar ist. Es kommt sehr auf die Beschaffenheit des Mistes an, den man verwendet. Der frische Kaninchenmist, den ich versuchte, erwies sich als ungeeignet, auch verrotteter ist mitunter nicht zu gebrauchen, z. B. wuchs auf Agar mit Extrakt von Kaninchenmist, den ich mir aus der Umgegend von Dortmund verschaffte, zwar Polyangium fuscum gut, dagegen wuchsen die von mir untersuchten Myxococcusarten nur ganz kümmerlich. Auf Agar mit Extrakt von Mist aus Ostpreußen wuchsen alle Formen gut. — Auf dem angefeuchteten und in Schalen gelegten Mist aus Dortmund fand ich häufig Polyangium fuscum, niemals Myxokokken, auf dem aus Ostpreußen recht oft Myxokokken. Die Mistarten unterschieden sich äußerlich namentlich dadurch, daß der aus Ostpreußen vorwiegend grasartige, der aus der Dortmunder Gegend moosartige Bestandteile enthielt.

Wie auch Quehl (1906. p. 28) mitteilt, bleibt Kaninchenmistagar nur wenige Wochen brauchbar. Quehl vermutet, daß das Unbrauchbarwerden des Nährbodens auf einer Absorption schädlicher Gase beruhe. Das ist nicht der Fall, denn auch auf Agar, der längere Zeit in einem mit Paraffin luftdicht verschlossenen Kolben aufbewahrt worden war, wuchsen Myxococcus ruber und Polyangium fuscum nicht. Bakterien, z. B. Bacillus oxalaticus, zeigen auf einem solchen Substrat recht kräftiges Wachstum.

Im allgemeinen enthielten die gallertförmigen Nährböden, die ich benutzte, 2 Proz. Agar. Ausnahmen machen der Dextrose-Agar, derselbe Agar ohne Dextrose und die auf ⅓ verdünnten, diesen beiden Nährböden entsprechenden Substrate. Ferner verwandte ich für die Reinzüchtung einen Agar mit höherem Prozentgehalt.

Es wurde ausschließlich relative Sterilisation angewandt.

Als gallertförmigen Nährboden benutzte ich zu meinen Versuchen später fast ausschließlich Kaninchenmistagar 10 + 100. Ich gebe hier im Zusammenhang die Herstellung dieses Substrates: Ich pulverisierte die trockenen Mistballen, fügte auf je 10 g Mistpulver 100 g Wasser und kochte das Gemisch ½ Stunde. Die alsdann abgegossene, ausgepreßte und filtrierte Flüssigkeit brachte ich auf das Volumen der zur Abkochung verwandten Wassermenge und setzte 2 Proz. Agar hinzu. — Wenn mir nur daran lag, vegetative Stäbchen zu erhalten, benutzte ich auch gelegentlich einen Nährboden bestehend aus 100 g Wasser, 0,2 g Pepton und 2 g Agar.

c. Organisierte Nährböden.

Von diesen Nährböden kommt in erster Linie das Substrat in Betracht, auf dem auch in der Natur die meisten Myxobakterien gefunden werden, der Mist. — Herr Prof. Thaxter hatte die Liebenswürdigkeit, mir mitzuteilen, daß sterilisierter Mist ein vorzüglicher Nährboden sei. Quehl (p. 28) gibt dagegen an, daß die von ihm untersuchten Myxobakterien nur kümmerlich oder gar nicht darauf gewachsen wären. Der scheinbare Widerspruch erklärt sich daraus, daß Quehl, wie er mitteilt, den Mist im Autoklaven sterilisiert hat. In dieser Weise behandelt ist das Substrat, wie ich fand, allerdings gänzlich unbrauchbar (ich sterilisierte ½ Stunde bei 1½ Atm.), dagegen im Dampftopf sterilisiert ist es nach meiner Ansicht überhaupt das beste Substrat für die Myxobakterien, welche ich untersucht habe, namentlich für Rohkulturen. Nirgends werden die Fruchtkörper so regelmäßig und groß ausgebildet wie hier, was Chondromyces crocatus besonders deutlich zeigt. Kaninchenmist eignet sich auch für diesen Zweck am besten, aber z. B. Pferdemist ist auch recht brauchbar.

Filtrierpapier auf Mist ist ebenfalls ein recht gutes Substrat, namentlich für Polyangium fuscum, dessen dunkle Fruchtkörper schlecht auf Mist gesehen werden, dagegen sich schön von der weißen Papierfläche abheben.

Filtrierpapier mit Kartoffelabkochung 5 + 100 getränkt ist für Chondromyces crocatus und Myxococcus ruber, weniger für Polyangium fuscum ein brauchbares Substrat.

Sterilisierte Kartoffelscheiben erwiesen sich dagegen als ungeeignet (Quehl p. 28).

Gypsplatten auf Mist und in Kartoffelabkochung 5 + 100 erlauben Myxococcus ruber kräftiges Wachstum. Chondromyces crocatus wächst auch darauf, aber schwächer als auf Filtrierpapier. Poylangium fuscum konnte ich nicht darauf züchten.

Bedingungen für das Auftreten ven Myxobakterien auf ausgelegtem Mist.

Bei den Angaben von Baur (p. 94) und Quehl (p. 12) über die günstigsten Bedingungen, unter denen Myxobakterien auf ausgelegtem Mist

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

erscheinen, vermisse ich die über die zweckmäßigste Feuchthaltung. Ich habe auf stark angefeuchtetem Mist niemals Fruchtkörper der Myxobakterien erscheinen sehen, auch wenn die Temperatur günstig war, also etwa 30° betrug. Dagegen habe ich häufig verschiedene Myxococcusarten und Polyangium fuscum auf Mist gefunden, der so viel Wasser enthielt, daß er wie leicht betaut aussah. Diesen Wassergehalt erzielt man leicht, wenn man die Mistballen sich zunächst in reichlicher Wassermenge vollsaugen läßt und dann auf einer Lage von Filtrierpapier in einer zu schließenden Schale locker ausbreitet. Dabei spielt die Höhe der Luftschicht zwischen dem Mist und dem Verschlußdeckel der Schale keine wesentliche Rolle, ich fand die genannten Spezies ebenso häufig in hohen wie in niedrigen Schalen.

2. Reinzüchtung.

Herr Prof. A. Meyer wies mich besonders darauf hin, daß man mit relativ großer Sicherheit Reinkulturen nur durch das Plattenverfahren oder durch Isolierung einer Einzelzelle unter dem Mikroskop gewinnen kann, im andern Falle hat man vielmehr damit zu rechnen, daß die vermeintlichen Reinkulturen fremde Organismen enthalten. Diese können sich entweder durch ihre kleine Zahl oder durch ihre geringen morphologischen Abweichungen der Beobachtung entziehen. Die Myxobakterien haben zwar eine recht charakteristische Wuchsform, aber, daß andre Organismen sehr ähnlich wachsen können, davon habe ich mich gelegentlich überzeugt.

Die Methode, zur Reinkultur, eine Einzelzelle unter dem Mikroskope zu isolieren, habe ich nur flüchtig versucht, ohne Resultat. Die Hauptschwierigkeit liegt darin, daß sich die vegetativen Stäbchen nicht fein genug verteilen lassen, da sie gegenseitig fest aneinander haften. Derselbe Grund ist es auch, der eine Reinkultur nach dem Plattenverfahren nahezu oder gänzlich unmöglich macht. Mit den Sporen der Myxokokken habe ich weniger Versuche gemacht (auch diese haften zusammen, doch nicht so fest wie die Stäbchen), da es mir speziell darauf ankam, Reinkulturen von Polyangium fuscum und Chondromyces crocatus zu erhalten. — Baur (p. 117) meint, das Plattenverfahren wäre deswegen ungeeignet, weil die Sporen meist nur an der Oberfläche des Agars gut keimten, bei dem Ausgießen in Petrischalen aber fast ausnahmslos mehr oder weniger tief in den Nährboden hinein gelangten; über das Verhalten der vegetativen Stäbchen sagt er nichts. Ich habe meine Versuche so eingerichtet, daß eine Aussaat nur auf die Oberfläche des Agars erfolgte, indem ich zunächst den Agar in Schalen ausgoß, darauf dann nach dem Erstarren steriles Wasser mit dem Aussaatmaterial brachte. Das überschüssige Wasser entfernte ich leicht, indem ich die Schalen in einen Exsikkator mit einem wasserentziehenden Mittel, z. B. H_2SO_4, stellte. Es ist aber nicht möglich, die Stäbchen in dem sterilen Wasser fein genug zu verteilen. Ich habe sie lange und kräftig geschüttelt, meist unter Zusatz von sterilem Sand, habe aber meinen Zweck nicht erreicht, die Stäbchen haften zu fest aneinander und schließen natürlich fremde Organismen mit in ihren Verband ein. Dieses feste Aneinanderhaften fällt ja auch schon auf, wenn man sich Präparate herstellt. In einem Tröpfchen Wasser auf dem Objektträger lassen sich die Stäbchen nicht verteilen wie etwa Vertreter der Gattung Bacillus, man muß zu diesem Zweck die vom Agar abgehobenen zähen Fetzen auf dem trockenen Objektträger auseinanderzerren und kann dann erst Wasser zusetzen. Auf dem Wege durch Plattengießen ist es mir also ebenfalls nicht gelungen, Reinkulturen zu gewinnen. Ich verzichtete daher darauf, mir nach solchen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Methoden, die durch die Art und Weise ihrer Anwendung schon bis zu einem gewissen Grade dafür bürgen, daß man durch sie Kulturen erhält, die rein sind. Ich wandte andere Methoden an und sah die durch diese gewonnenen Kulturen als rein an, wenn sowohl bei makroskopischer als mikroskopischer Beobachtung nichts gegen eine Reinkultur sprach. Ich behaupte aus den schon vorher angegebenen Gründen aber nicht mit Bestimmtheit, daß ich mit absolut reinen Kulturen gearbeitet habe, obwohl ich das annehme, da sich unter den verschiedensten Kulturbedingungen, namentlich unter Benutzung von Nährböden, die für die Myxobakterien ungünstig, für andre Organismen, besonders Bakterien aber günstig sind (z. B. Dextrose-Agar) keine fremden Elemente zeigten.

Ich benutzte zunächst das von Quehl (1906. p. 21) beschriebene Verfahren, Cysten, Sporen oder vegetative Stäbchen von den Rohkulturen abzuheben und in die Mitte einer mit Kaninchenmistagar ausgegossenen Petrischale zu impfen, dann nach einiger Zeit von möglichst rein erscheinenden Stellen der entwickelten Kolonie abzuimpfen und das Verfahren so lange zu wiederholen, bis die Organismen rein wachsen. Zuerst hatte ich vielfach Mißerfolge mit dieser Methode, bis mir die Bedingungen bekannt wurden, unter denen die Myxobakterien die Vertreter der meisten Bakteriengruppen an Schnelligkeit der Ausbreitung übertreffen. Goß ich den Agar in dicker Schicht, etwa 0,5—1cm hoch in die Petrischalen, so breiteten sich die andern Organismen meist schneller oder ungefähr ebenso schnell aus wie die Myxobakterien, bei dünner Agarschicht breiteten sich die Myxobakterien zunächst ebenso schnell oder auch langsamer aus, dann aber nach einiger Zeit viel schneller. Als Grund dieses eigenartigen Verhaltens erkannte ich die Fähigkeit der Myxobakterien, mit geringeren Wassermengen auskommen zu können als die meisten anderen Bakterien, die unter ähnlichen Bedingungen existieren. Die dicke Agarschicht läßt ihr Wasser so langsam verdunsten, daß diese Organismen die ganze Platte überwuchert haben, bevor Wassermangel sie an ihrem Wachstum hindern kann. Bei der dünnen Agarschicht geht die Wasserverdunstung natürlich viel schneller vor sich. Hier gestattet das zunächst noch reichlich vorhandene Wasser auch den verunreinigenden Elementen in der ersten Zeit kräftiges Wachstum, mit dem abnehmenden Wassergehalt fällt aber die Wachstumsintensität derselben und die der Myxobakterien überwiegt so stark, daß sie so weit rein werden, als sie nicht selbst die Verunreinigungen mit sich schleppen, was aber nur bis zu einem gewissen Grade der Fall ist. Die geringe Anspruchslosigkeit der Myxobakterien in Bezug auf den Wassergehalt des Substrates lernte ich durch folgende Untersuchungen genauer kennen: Es ist selbstverständlich, daß das Wasser eines Nährbodens, der relativ wenig Agar enthält, den auf ihm wachsenden Organismen leichter zugänglich ist als das Wasser eines Nährbodens, der relativ stark agarhaltig ist. Ich stellte mir zu meinen Versuchen einen Nährboden mit 0,2 Proz. Pepton und 2 Proz. Agar her und einen solchen mit 0,2 Proz. Pepton und 10 Proz. Agar. Mit diesen Nährböden habe ich festgestellt, daß einerseits die Intensität des Wachstums der Myxobakterien auf Nährböden mit relativ viel Agar ungefähr dieselbe ist wie auf solchen mit relativ wenig, andrerseits die Intensität des Wachstums vieler Vertreter der Gattung Bacillus, die ja die am schwierigsten auszuschließenden verunreinigenden Elemente sind, bedeutend durch einen Nährboden mit viel Agar herabgesetzt wird. Es wurden auf den angegebenen Nährböden, die in dicker Schicht in Petrischalen ausgegossen wurden, nachdem die Agarfläche vollständig von jeder

Digitized by Google · Original from UNIVERSITY OF IOWA

Spur Kondenswasser durch Einstellen in einen Exsikkator mit Schwefelsäure befreit war, Myxococcus ruber und Bacillus oxalaticus punktförmig geimpft. Nach 4 Tagen war die Ausdehnung der Myxococcus ruber-Kolonie auf dem Nährboden mit 10 Proz. Agar und auf dem mit 2 Proz. Agar ungefähr dieselbe, sie hatte in beiden Fällen einen Durchmesser von ca. 1,5 cm. Dagegen war die Ausdehnung der Kolonie von Bacillus oxalaticus auf dem Nährboden mit 10 Proz. Agar viel geringer als auf dem mit 2 Proz. Auf ersterem betrug der Durchmesser der Kolonie 0,3 cm, auf letzterem 2,5 cm. Entsprechendes Verhalten zeigten Bacillus asterosporus, cohaerens, tumescens. Auf Grund des beschriebenen Verhaltens ließen sich die von mir kultivierten Myxobakterienspezies mühelos und schnell rein züchten. Ich stellte zu Reinzüchtungszwecken Nährböden mit 10 Proz. Agar her. Eine völlige Auflösung dieser großen Agarmengen erfolgt nur im Autoklaven, ein Druck von 1 Atm. 1 Stunde lang genügt. Am besten bewährte sich ein Kaninchenmistagar 10 + 100, aus dem der Mist nicht entfernt wurde. Der Nährboden wurde in der Weise hergestellt, daß zunächst Agar mit der entsprechenden Wassermenge aufgelöst dann Kaninchenmist in der bestimmten Menge zugesetzt und mit dem Agar verschüttelt wurde. Füllt man einen derartigen Nährboden in Reagenzröhren und läßt schräg erstarren, so verbleibt der Mist zum größten Teil unten in der Röhre. Die Flüssigkeit des Mistes ist den an dieser Stelle geimpften Organismen leichter zugänglich als die Flüssigkeit des Agars. Die Folge davon ist, daß hier zunächst eine reichliche Entwicklung aller darauf geimpften Organismen stattfindet. von hier aus aber sich dann die Myxobakterien mehr oder weniger rein auf die Agarfläche, die nur ihnen günstige Bedingungen gewährt, schieben. Je weiter sie wachsen, um so weniger fremde Elemente sind ihnen beigemischt und meist kann man, wenn die Kultur bis zum Rande des Agars vorgedrungen ist, sie hier rein abnehmen, andernfalls wiederholt man das Verfahren. Wichtig ist bei der angegebenen Reinzüchtungsmethode, daß der obere Teil der Agarfläche vollkommen trocken ist. Gerade bei Nährböden mit hohem Gehalt an Agar bilden sich Wassertropfen, die man vollständig verdunsten lassen muß. Das Verdunsten dauert natürlich in langen engen Kulturröhren ziemlich lange, während es in kurzen weiten schnell von statten geht, letztere haben außerdem den für die Reinzüchtung sehr erwünschten Vorzug, eine größere Agarfläche zu besitzen. Es wurden Röhren angewandt von 11 cm Länge und 2,5 cm Weite. Zu Reinzüchtungszwecken konnte ich auch Peptonnährböden mit 10 Proz Agar benutzen, allerdings war hierbei Bedingung, daß ich mit vegetativen Stäbchen impfte. Ein Kaninchenmistnährboden ist außer dem Grunde, daß die Nährstoffe in ihm vielen Organismen nicht zusagen, namentlich deswegen besonders geeignet, weil die im Miste am Grunde der Röhre enthaltene Flüssigkeit die Keimung der Cysten und Sporen mit mehr Wahrscheinlichkeit eintreten läßt, als die Agarfläche.

3. Wuchsformen auf und in verschiedenen Nährböden.

a. Myxococcus ruber.

Gallertförmige Nährböden.

Kaninchenmistagar 10 + 100. Baur (1905, p. 120) gibt an, daß Myxococcus ruber einen zarten, dünnen Belag bilde. Ich habe dieser Bemerkung hinzuzufügen, daß der Organismus auf Kaninchenmistagar 10 + 100 häufig ein wenig in den Agar eindringt. Dieses Eindringen erfolgt nicht unmittelbar nach der Aussaat, sondern erst nachdem die Kolonie eine Zeit lang nur in die Fläche gewachsen ist. Das Eindringen beginnt dann zuerst in der Mitte und schreitet nach der Peripherie zu fort. Die Fruchtkörper unterscheiden sich in ihrer Form in nichts von den auf natürlichem Substrate gebildeten. Streift man sie ab, so findet man, daß an der Stelle wo sie gesessen haben, eine kleine Vertiefung in dem Agar vorhanden ist. Im Gegensatz zu den auf andern Agarnährböden gebildeten behalten die Fruchtkörper lange ihre Form, vorausgesetzt, daß sie vor Eintrocknung bewahrt bleiben. Trocknen sie ein, so werden sie zu flach aufsitzenden hornigen Massen. Thaxter (1892) berichtet, daß die Myxokokken wenig Neigung zeigen können, sich zu sammeln, mehr oder weniger verteilt bleibend bis gerade vor der Periode der Sporenbildung. Bei Myxococcus ruber ist das nicht der Fall, die Individuen schließen auf Kaninchenmistagar auch während des vegetativen Wachstums so dicht zusammen, daß sie eine abziehbare Haut bilden.

Kartoffelextraktagar: Mit steigender Konzentration nimmt das vegetative Wachstum, die Zahl der Fruchtkörper, das Eindringen der Kolonie in das Substrat zu, die Größe der Fruchtkörper nimmt ab.

Kartoffelextraktagar 2 + 100: Vegetatives Wachstum sehr schwach, Fruchtkörper relativ groß, doch kleiner als auf Kaninchenmistagar. Zahl der Fruchtkörper sehr klein.

Kartoffelextraktagar 5 + 100: Vegetatives Wachstum stärker, Fruchtkörper zahlreicher, etwas kleiner.

Kartoffelextraktagar 10 + 100: Gutes vegetatives Wachstum, kleine zahlreiche Fruchtkörper. Kolonie dringt in derselben Weise in das Substrat ein wie bei Kaninchenmistagar 10 + 100.

Kartoffelextrakt 20 + 100: Starkes vegetatives Wachstum. Äußerst zahlreiche und kleine Fruchtkörper. Das Eindringen in den Agar viel stärker.

Kartoffelextraktagar 30 + 100: Kräftiges vegetatives Wachstum, keine Fruchtkörperbildung. Die Kolonie dringt in dichter Wolke in den Agar ein.

Peptonnährböden: Das vegetative Wachstum, das Eindringen der Stäbchen in das Substrat, die Zahl und Größe der Fruchtkörper verhalten sich bei steigender Konzentration des Nährstoffes gerade so wie auf Kartoffelextraktnährböden.

0,2 proz. Peptonagar: Das vegetative Wachstum ist etwas stärker als auf Kaninchenmistagar 10 + 100. Die Kolonie dringt stärker in den Agar ein. Die Fruchtkörper sind etwas kleiner und auch unbeständiger. Viele von ihnen sitzen nicht wie die Fruchtkörper auf Kaninchenmistagar direkt dem Substrate auf, sondern haben eine Basis unter sich, eine Ansammlung von Stäbchen, die die Form eines flach ausgebreiteten Wassertropfens hat. Die Gestalt der Fruchtkörper selbst ist aber nicht verändert.

0,5 proz. Peptonagar: Stäbchen dringen in den Agar ein. Sie lassen sich nicht von dem Agar abstreifen und nur mit diesem zugleich kann man Untersuchungsmaterial losreißen. Alle Fruchtkörper mit Basis.

Agar mit 0,1 Proz. Pepton und 1 Proz. Dextrose: Vegetatives Wachstum schwächer als auf 0,2 Proz. Peptonagar. Auf den Dextrosezusatz ist es wohl zurückzuführen, daß alle Fruchtkörper eine „Basis“ haben.

Dextroseagar: Die Beschreibung des Wachstums von Myxococcus ruber auf Pepton-Dextroseagar unbestimmter Konzentration, die Baur (1905. p. 118) liefert, entspricht dem Wachstum auf Dextroseagar. Baur schreibt: „Auf den peptonhaltigen Nährböden, am schönsten auf Pepton-dextroseagar, entwickelte sich anfangs sehr langsam ein fleischfarbener bis gelber Belag, aus Stäbchen und aus sehr reichlichem, zähem, fast knorpeligem Schleim bestehend. Dieser Belag wächst nur sehr wenig, breitet sich höchstens 1 cm weit von der Impfstelle aus.“ Dieser Beschreibung habe ich hinzuzufügen, daß die Kolonie zwar nicht in die Breite, dafür aber um so mehr in die Tiefe wächst, etwa 0,3—0,5 cm in den Agar hinein, über den Agar erhebt sie sich aber nicht. Die Stäbchen dringen in so geschlossener Masse und mit so scharfer Grenzlinie ein, daß man sie in ihrer Gesamtheit wie einen Pflock herausreißen kann. Es macht ganz den Eindruck, als ob der Agar an der betr. Stelle eingeschmolzen wäre durch das Hineinwachsen der ganzen geschlossenen Kolonie. Die Individuen bilden so fest geschlossene Massen, daß man sie nur mit Mühe und unter Anwendung geeigneter Mittel (Osmiumsäure) trennen kann.

Nähragar ohne Dextrose: Wachstum wie auf Dextroseagar.

⅓ Dextroseagar und ⅓ Agar ohne Dextrose: Wachstum entspricht im wesentlichen dem auf 0,5 proz. Peptonagar.

Flüssige Nährböden.

Baur (1905. p. 114) schreibt, daß Myxococcus ruber in Mistabkochung wächst. Daß in einem flüssigen Nährboden, in dem eine freie Entwicklung nach jeder Richtung hin erfolgen kann, die Eigenart des Wachstums einer Kolonie gut zum Ausdruck gelangen kann, ist selbstverständlich. Ich wandte daher meine Aufmerksamkeit in erster Linie auf das Wachstum in diesen Substraten und fand so eigenartige und charakteristische Verhältnisse, daß ich eine eingehendere Beschreibung für angebracht halte.

Kartoffelextrakt 5 + 100. Ich habe meine Untersuchungen in der Weise ausgeführt, daß ich das Substrat in sterilisierte Petrischalen goß und in diesen direkt beobachtete. Myxococcus ruber bildet auf dem Boden der Petrischale einen dünnen zusammenhängenden Belag. Abgesehen von Einzelstäbchen, die in der Umgebung der Kolonie vorkommen, bildet diese ein geschlossenes Ganzes, das nicht in einzelne Teile zerfällt, im Gegenteil, es schließen sich, wenn Aussaatmaterial an mehrere Stellen gelangt ist, die entstehenden Kolonien bei weiterer Ausdehnung zusammen, was ja auch Quehl für das Wachstum auf Agar sagt. Der zarte Belag auf dem Boden der Petrischale erinnert in seinem Aussehen an Eiskrystalle an Glasscheiben. Hervorgerufen wird diese Erscheinung durch wechselnde Dicke des Belages. In der Umgebung des Aussaatmaterials sind die „eisblumenartigen“ Gebilde meist konzentrisch angeordnet. Früher oder später pflegen sich sowohl auf diesem Belage als auch auf dem Aussaatmaterial eigentümliche Bildungen zu entwickeln. Es erheben sich kugelige Massen aus dem Belage, wechselnd in ihrer Größe, in der Gestalt den Fruchtkörpern entsprechend (F. 2). Diese bleiben vereinzelt oder, was meistens der Fall ist, werden verbunden durch Stränge von wechselnder Dicke. Durch diese kugeligen Erhebungen und die verbindenden Stränge wird oft ein mehr oder weniger dichtes Netz erzeugt, das mit dem Bodenbelage am Grunde stets verschmolzen ist. Die Erhebungen an den Knotenpunkten des Netzes erscheinen wegen ihres größeren Inhaltes stärker pigmentiert als die Stränge. Man könnte sie bei schwacher Vergrößerung für Fruchtkörper halten, allerdings sind sie bedeutend kleiner. Es kann auch ein Netz zustande kommen, an dessen Knotenpunkten keine Erhebungen liegen, meist sind solche aber vorhanden.

Ich habe das Wachstum einer Kolonie von der Sporenaussaat bis zur

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Sporenbildung verfolgt, und zwar bei schwacher Vergrößerung, wobei ich die Petrischale, in der die betr. Kolonie wuchs, nicht öffnete, um Infektion mit fremden Organismen zu vermeiden. Man darf nur eine schwache Beleuchtung anwenden, da sonst das Wachstum an der betreffenden Stelle gestört wird.

Wie aus meinen Beschreibungen hervorgeht, war es notwendig, ein und dieselbe Stelle immer wieder zu beobachten, um die aufeinanderfolgenden Vorgänge kennen zu lernen. Zu gleicher Zeit mit dieser möglichst kontinuierlich beobachteten Kolonie setzte ich andere Petrischalen in gleicher Weise an, um die verschiedenen Bildungen bei stärkerer Vergrößerung zu untersuchen.

Die Entwicklung einer Myxococcus ruber-Kolonie unter den besprochenen Verhältnissen geht folgendermaßen vor sich:

5 Stunden nach der Aussaat: In nächster Umgebung des ausgesäten Fruchtkörpers regellos und locker angeordnete Stäbchen.

15 Stunden: Auf dem Fruchtkörper stehen nach allen Richtungen hin Auswüchse, die aus Stäbchen bestehen, welche büschelig nach außen gerichtet sind (F. 1), er ist umgeben von einer Stäbchenschicht. Die Stäbchen auf dem Boden der Schale sind in nächster Nähe des Fruchtkörpers meist radial zu demselben angeordnet und liegen lückenlos nebeneinander, etwas weiter vom Fruchtkörper liegen die Stäbchen lockerer und sind regellos gerichtet. In der dichtesten Stäbchenmasse heben sich einzelne kreisförmige Stellen ab, es sind hier die Stäbchen höher geschichtet als an den übrigen Partieen.

20 Stunden: Die Ausdehnung der Stäbchen auf dem Boden der Schale hat zugenommen. Die Stäbchen des dichten Schwarmes liegen in einer eisblumenartigen Schicht. Die „Eisblumen“ bilden im Umkreise des Fruchtkörpers konzentrische Ringsegmente. Mehr in die Augen fallend als diese Ringsegmente sind die Erhebungen, deren beginnende Bildung schon die 15 Stunden-Kultur zeigte. Sie stehen vornehmlich an den Stellen, wo die höheren Schichten zu den tieferen abfallen. Am größten sind die Erhebungen auf der Sporenmasse. Die hier zunächst als büschelige Masse hervorgebrochenen Stäbchen haben eine etwas regelmäßigere Struktur angenommen. Sie liegen dicht zusammen und haben in den äußeren Schichten fast durchweg eine tangentiale Anordnung. Eine gleiche Struktur haben die in nächster Nähe des Fruchtkörpers liegenden Erhebungen, während die in weiteren Entfernung in Bildung begriffenen büscheliger sind. Die Erhebungen in der Nähe des Fruchtkörpers und auch die des Fruchtkörpers selbst sind meist miteinander verbunden durch Stäbchenstränge, deren Komponenten alle parallel dem Strange, den sie bilden, gerichtet sind, meist am Grunde in die Stäbchenmasse des Bodens übergehen, aber auch frei zwischen den Erhebungen ausgespannt sein können.

25 Stunden: Die Zahl der Erhebungen hat zugenommen, ebenso die Größe der in der Nähe des Fruchtkörpers liegenden. Die dichtgeschlossene Kolonie hat jetzt einen Gesamtdurchmesser von ca. 2 cm, außerdem sind Stäbchen, die nicht miteinander in engem Kontakt stehen, auf dem Boden der ganzen Schale verbreitet.

40 Stunden: Die Erhebungen sind durch zahlreiche Stäbchenstränge verbunden, so daß die Bodenschicht bei schwacher Vergrößerung wie mit einem Netz übersponnen erscheint (F. 2). Am besten ist dieses Netz in einiger Entfernung vom ausgesäten Fruchtkörper ausgebildet, da, wo die Erhebungen eine mittlere Grenze zeigen. In der Nähe des Fruchtkörpers sind die Erhe-

bungen am größten, aber das Netz erscheint hier wie in einzelne Fetzen zerrissen. Es ist zerfallen in Komplexe von 1—6, selten mehr Erhebungen, welche sich einander genähert haben. (F. 3 und 4.) An den Erhebungen kann man unterscheiden einerseits Stäbchenstränge, welche die Verbindungen zwischen den Erhebungen des zusammengehörigen Komplexes herstellen, andrerseits solche, welche von den Erhebungen in die Bodenmasse verlaufen.

60 Stunden: In weiterer Entfernung von der ausgesäten Sporenmasse bilden die Erhebungen mit ihren Verbindungssträngen ein mehr oder weniger dichtmaschiges Netz, mehr nach der Mitte zu ist das Netz in einzelne Partien zerteilt, die Erhebungen sehen hier so aus wie die Erhebungen bei der 40 Stunden-Kultur in der Mitte. Die Erhebungen in der Mitte haben sich vergrößert und die Komponenten der einzelnen Komplexe haben sich noch mehr einander genähert. Einzelne sind schon mit einander in Berührung getreten, wobei die Stäbchenstränge sich verkürzt und verbreitert haben. (F. 5.)

80 Stunden: Zwischen den einzelnen Netzpartieen haben sich neue kleine Erhebungen gebildet, die teilweise schon durch Stäbchenstränge verbunden sind. Sie sind im Gegensatz zu den alten Erhebungen sehr klein. Letztere sind zum Teil miteinander verschmolzen (F. 8), resp. stehen im Begriffe dazu, es zu tun (F. 6 und 7). Die Vereinigung der einzelnen Erhebungen der Komplexe ist in der Mitte der Kolonie eine vollständige, sie bilden bei schwacher Vergrößerung eine einheitliche homogene Masse (F. 8). Etwas weiter nach der Peripherie zu liegen Massen, welche ihre Zusammensetzung aus einzelnen Teilen noch erkennen lassen (F. 6 und 7). Man unterscheidet bei ihnen hellere und dunklere Partieen, erstere entsprechen den früheren Stäbchensträngen, letztere den Erhebungen. Diesen Bildungen folgen nach außen zu solche, welche noch gegliedert sind (F. 5), dann einzelne Netzpartien (F. 3 und 4) und schließlich ein geschlossenes Netz (F. 2).

100 Stunden: Die homogenen Komplexe sind rot gefärbt, teilweise sind die Stäbchen in ihnen in ihrer Längsachse kontrahiert, teilweise sind schon Sporen vorhanden.

140 Stunden: Die Sporulation ist fast vollständig beendet, der Boden der Schale ist mit roten kegelförmigen Fruchtkörpern bedeckt.

Die Erklärung für die eigenartige Erscheinung, daß sich die Erhebungen mit ihren Verbindungssträngen in einzelne Komplexe gliedern, deren Komponenten zu einheitlichen Massen, die zu Fruchtkörpern werden, zusammentreten, suche ich in der Anziehungsfähigkeit sporulierender Stäbchen für vegetative, die Thaxter (1892) und besonders Baur (1905, p. 113) untersucht haben. Nach meiner Vorstellung beginnt die Sporenbildung ziemlich gleichzeitig an verschiedenen Punkten, die Attraktionspunkte für die vegetativen Stäbchen sind. Die Stäbchen der Bodenmasse wandern diesen Attraktionspunkten zu, wobei sie die auf ihnen ruhenden Erhebungen und Stränge mit sich schleppen. So kommt es, daß sich die Erhebungen allmählich einander nähern und schließlich miteinander zu Anhäufungen verschmelzen, die mit der fortschreitenden Sporulation zu Fruchtkörpern werden.

Die in Nährflüssigkeit gebildeten Fruchtkörper haben im Gegensatz zu den auf festem Substrat gebildeten eine kegelförmige und unregelmäßigere Gestalt. Letzterer Umstand verdankt seine Entstehung der Bildung aus mehreren Einzelmassen.

Wie auch Baur (1905, p. 117) berichtet, entstehen auf flüssigen Nährböden Kolonien als schwimmende Häute. Ich habe gesehen, daß sich auf der dem Substrate zugekehrten Seite gerade solche kugelige Erhebungen mit Verbindungssträngen bildeten wie auf dem Boden der Schale.

Die Nährflüssigkeit wurde durch das Wachstum von Myxococcus ruber niemals getrübt, auch nicht bei kräftigem Schütteln. Da die meisten Bakterienarten eine Trübung hervorrufen, so ist das Klarbleiben des Extraktes mit ein Zeichen für die Reinheit der Kultur.

Nährflüssigkeit mit 0,5 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Dextrose. Es entstand ein sehr kräftiger Bodenbelag mit wenigen aber großen kugeligen Erhebungen. Netzbildung sah ich in diesem Substrat nicht auftreten. Zur Fruchtkörperbildung kam es nicht.

b. Blaß rosa gefärbte Myxococcus rubescens-Rasse.

Kaninchenmistagar 10 + 100: Wachstum und Fruktifikation nur kümmerlich. In Rohkultur auf demselben Substrat werden reichlich große Fruchtkörper gebildet.

0,2 Proz. Peptonagar: Vegetatives Wachstum besser als auf Kaninchenmistagar. Fruchtkörperbildung findet in Reinkultur nicht statt, wohl aber in Rohkultur.

Sterilisierter Kaninchenmist: Schöne Fruchtkörperbildung auch in der Reinkultur.

Kartoffelabkochung 5 + 100. Es entstanden bei dieser Rasse ebenfalls kugelige Erhebungen. Diese waren aber viel kleiner als die von Myxococcus ruber. Sie saßen, anstatt wie dort durch mehr oder weniger feine Stränge verbunden zu sein, auf dicken, ein Netz bildenden Wülsten knopfartig auf. Statt dieser Bildungen entstanden auch häufig aus der Bodenschicht fingerförmige Auswüchse. Die Auswüchse standen entweder einzeln für sich als einfache aufrechte Zylinder mit leicht gewölbter Kuppe oder sie waren zu 2—5 am Grunde verbunden und nahmen dann eine geneigte Lage ein.

c. Myxococcus virescens.

Kaninchenmistagar 10 + 100. Schwaches vegetatives Wachstum. Ausbildung sehr kleiner flacher Fruchtkörper. Rohkultur schöne sehr große Fruchtkörper.

Agar mit 0,2 Proz. Pepton: Gutes vegetatives Wachstum wie es Quehl (1906, p. 29) beschreibt: „Es entsteht anstatt des farblosen Schleimes ein kräftig gelber Belag auf der Oberfläche des Agars.“ Fruchtkörperbildung findet auf diesem Substrate nicht statt, außer in Rohkultur. Ich habe einige Versuche gemacht, Myxococcus virescens durch Zusammenimpfen mit bekannten Bakterienspezies zur Fruktifikation zu bringen. Ich verwandte Bacillus tumescens (schwacher Säurebildner), Bacillus asterosporus (starker Säurebildner), Bacillus cohaerens (Alkalibildner), ohne Erfolg. Ebensowenig hatte ich Erfolg mit dem Zusammenimpfen mit einigen Bakterienspezies, die ich von dem Substrate isolierte, auf dem Myxococcus virescens gut fruktifizierte, dabei war ein Chlamydobacterium.

Sterilisierter Kaninchenmist: Fruchtkörperbildung findet nicht in Reinkultur, wohl aber in Rohkultur statt.

Kartoffelabkochung 5 + 100: Wuchsform zuerst ganz wie bei Myxococcus ruber. Die Entwicklung und Ausbreitung der Kolonie auf dem Boden der Schale nimmt lange Zeit in Anspruch. Weiter als zur Ausbildung eines mehr oder weniger dichten Netzes kommt es nicht. Fruchtkörper werden nicht gebildet.

d. Polyangium fuscum.

Gallertförmige Nährböden.

Kaninchenmistagar 10 + 100: In der Literatur finde ich zwar einige Bemerkungen über anormale Wuchsformen von **Polyangium fuscum**, dagegen vermisse ich eine Beschreibung seines normalen Wachstums wie es auf Kaninchenmistagar 10 + 100 stattfindet. Im Gegensatz zu dem vegetativen Wachstum von **Myxococcus ruber** bleibt der Agar blank, er sinkt nur an den Stellen, wo der Organismus wächst, etwas ein und bekommt ein eigenartiges faltiges, gezerrtes Aussehen. Abheben läßt sich nichts von dem Substrate. Untersuchungsmaterial kann man nur zugleich mit Agar losreißen. Ich benutzte zu diesem Zwecke eine gebogene, vorn scharf gefeilte Platinöse. Polyangium fuscum wächst in der ersten Zeit nach der Aussaat ganz oben im Agar, wenn die Kolonie etwas älter geworden ist, dringt sie in wolkigen Schleiern tiefer in das Substrat hinein, wo auch später zum Teil die Fruchtkörper gebildet werden. Gelegentlich konnte ich ein eigenartiges Zonenwachstum auf der Agarfläche bemerken, es entstanden konzentrische Ringe, hervorgerufen durch abwechselnd größere und kleinere Stäbchenmengen.

Peptonnährböden. Auf diesen Substraten macht sich bei **Polyangium fuscum** eine entgegengesetzte Erscheinung bemerkbar wie bei **Myxococcus ruber**. **Polyangium fuscum** dringt um so weniger in das Substrat ein, je mehr Nährstoffe dieses enthält.

Agar mit 0,2 Proz. Pepton: Kräftiges vegetatives Wachstum. Stäbchen dringen nur wenig in das Substrat ein. Es werden zahlreiche Fruchtkörper gebildet. Diese unterscheiden sich morphologisch kaum von denen auf Kaninchenmistagar, sind aber sehr unbeständig, sie zerfließen nach wenigen Wochen.

Agar mit 0,5 Proz. Pepton: Wachstum in ziemlich dicker Schicht auf dem Substrat. Kein Eindringen der Stäbchen. Fruchtkörper werden nicht gebildet.

Dextrose-Agar: Hier steht das Wachstum von **Polyangium fuscum** im schärfsten Gegensatze zu dem von **Myxococcus ruber**. Es entspricht ganz der Beschreibung, die Quehl (1906, p. 29) von **Polyangium fuscum** auf Peptonnährböden von unbestimmter Konzentration gegeben hat: „Auf Peptonnährböden breitete sich der Schwarm nur sehr wenig aus, wuchs dann in die Höhe und bildete schließlich eine unförmige zähgallertartige rosafarbene bis rote Masse, die ¼—½ cm hoch war und sich 1—2 cm auf dem Substrat ausgebreitet hatte“. Ich bemerke hierzu, daß nicht das geringste Eindringen der Kolonie in den Nährboden stattfindet.

Flüssige Nährböden:

Kartoffelabkochung 5 + 100: Vollständig abweichend von dem Wachstum des **Myxococcus ruber** ist das des **Polyangium fuscum**. Dieser Organismus wächst in flüssigem Substrate nicht in einem geschlossenen Schwarme, sondern bildet flottierende Ballen, die sich mehr oder weniger der Kugelform nähern, vielfach durchaus den Anfangsstadien der Fruchtkörper gleichen und niemals mit dem Boden oder den Wänden des Kulturgefäßes verbunden sind. Nach 4—6tägigem Wachstum in der Kartoffelabkochung in ca. 1 cm dicker Flüssigkeitsschicht bei 30° sind sehr zahlreiche kugelige Ballen vorhanden, von mikroskopischer Kleinheit bis zu 3—4 mm Größe im Durchmesser. Die meisten dieser flottierenden Massen, namentlich die kleineren, haben eine gleichmäßige Oberfläche. Manche der größeren

Ballen tragen aber kugelförmige Erhebungen, die denen von Myxococcus ruber gleichen. Diese Auswüchse befinden sich vielfach in Vertiefungen der Ballen, einige sind durch Stäbchenstränge verbunden. Von andern Kugelmassen gehen lange strahlige Fortsätze aus. Die Fortsätze tragen zum Teil an ihren Enden knopfartige Verdickungen. In dünnen Flüssigkeitsschichten sind die größeren Ballen scheibenförmig zusammengedrückt und zwar dann, wenn die Dicke der Schicht geringer ist, als der Durchmesser der Ballen. Besonders eigenartige Wuchsformen, die man häufig beobachten kann, sind Hohlkugeln, in denen 1 oder 2 andere eingeschachtelt liegen. Es lassen sich die inneren Kugeln leicht herausschälen, da der Verband zwischen den Kugelschalen ein äußerst lockerer ist. Ob die Schichtung dieser Bildungen durch ungleichmäßiges Wachstum entstanden war, dicht gelagerte Stäbchen also mit weniger dicht gelagerten abwechselten, oder wie die einzelnen Schalen miteinander verbunden waren, wurde nicht festgestellt, da es nicht gelang, durch diese äußerst zarten Gebilde Schnitte anzufertigen. Vielleicht entspricht diese Wuchsform dem Zonenwachstum auf Agar. Denkt man sich die ineinandergeschachtelten Hohlkugeln zusammengedrückt, so erscheinen sie als konzentrische Ringe. Schwimmende Häute werden von Polyangium fuscum nicht gebildet. Die Dichtigkeit der beschriebenen Wuchsformen ist sehr verschieden, einige sind so zart gefügt und durchsichtig, daß man sie in der Flüssigkeit kaum wahrnimmt, andere sind derb und haben ein weißliches Aussehen. Was die Struktur der Ballen anbelangt, so zeigen bei kleinen Ballen die Stäbchen an der Peripherie meist eine radiale, bei größeren meist eine tangentiale Anordnung. Über die Lagerung im Innern habe ich keinen bestimmten Aufschluß gewonnen.

Im allgemeinen sah ich in flüssigem Substrate bei Polyangium fuscum keine Fruchtkörperbildung eintreten, nur in wenigen Fällen wurde in ganz dünner Flüssigkeitsschicht Cystenbildung beobachtet. Diese trat erst 12 Tage nach der Aussaat ein, und zwar bildeten sich die Cysten innerhalb der Ballen, ganz unregelmäßig darin angeordnet, wobei sie sich durch ihre braune Farbe scharf abhoben. In ganz kleinen Kugeln wurde nur eine Cyste gebildet. Baur (1905, p. 103), der die Cystenkeimung und Cystenbildung von Polyangium fuscum im Hängetropfen beobachtete, gibt an, daß schon 2 Tage nach der Aussaat die Bildung neuer Cysten begänne, er berichtet: „An verschiedenen Punkten des Schwarmes zeigen sich dichtere Stäbchenansammlungen und schließlich nach etwa einem weiteren Tage haben sich fast alle Stäbchen um diese Zentren gesammelt und bilden festgefügte kugelige Ballen, die in der im übrigen fast stäbchenleeren Schleimmasse liegen“. Baur betrachtet diese kugeligen Ballen als Anfänge der Fruchtkörper, nach meinen Beobachtungen ist es mir wahrscheinlich, daß es sich hier um die beschriebenen Wuchsformen handelt, die sich allerdings in ihrer Form häufig nicht im geringsten von den im Anfange der Bildung stehenden Cysten unterscheiden, wie man sie etwa am 6. Tage nach der Cystenaussaat auf Kaninchenmistagar 5 + 100 reichlich findet. Ebenso wie bei Myxococcus ruber bleibt die Nährlösung, in der Polyangium fuscum wächst, völlig klar. Selbst die kleinsten Ballen sind nicht klein und wohl auch nicht zahlreich genug, um ein trübes Aussehen des Substrates zu bedingen.

e. Chondromyces crocatus.

Kaninchenmistagar 10 + 100: In Reinkultur wächst der Organismus auf diesem Substrate äußerst schwach und zwar zeigt er ähnliche

Wuchsformen wie Polyangium fuscum. Wegen des schwachen Wachstums gelang es mir erst nach sehr langem Bemühen mit der von mir beschriebenen Methode, Chondromyces crocatus rein zu erhalten. Die Kolonie wächst in Rohkultur kräftig, auf dem, 10 Proz. Agar enthaltenden Nährboden, auch an den Stellen, wo fremde Organismen sie nicht verunreinigen. Impft man aber nun von diesen Stellen auf sterilen Kaninchenmistagar 10 + 100, so tritt, wenn keine verunreinigenden Elemente mitgeimpft sind, bestenfalls ein kümmerliches, meist aber gar kein Wachstum ein. Durch Zuimpfen von Bacillus oxalaticus konnte ich jetzt kräftigeres vegetatives Wachstum erzielen. Auch Fruchtkörper wurden gebildet, aber nur anormale. Fruchtkörperbildung sah ich am besten, außer auf Mist, auf Kaninchenmistagar 10 + 100 mit 10 Proz. Agar in Rohkultur. Auf einem Nährboden mit 2 Proz. Agar sind die Fruchtkörper sehr kümmerlich und zwar werden sie hier nur an der Glaswand der Kulturröhren gebildet.

4. Vegetative Stäbchen.

a) Morphologie der Stäbchen.

Untersuchungsmethoden.

Durch das Abweichen der Myxobakterien von den Bakterien in einigen Beziehungen wird die Untersuchungstechnik der ersteren in einigen Punkten, die ich hier erwähnen möchte, ein wenig anders. Dem äußerst zähen Zusammenhaften der Stäbchen in dichtgeschlossenen Kolonieen kann man in der Weise begegnen, daß man das Untersuchungsmaterial zunächst auf dem trockenen Deckglas etwas verreibt und dann erst Wasser zubringt. Als Fixierungsmittel erwies sich Osmiumsäure sehr geeignet, sie hat neben ihrer fixierenden Wirkung auch die für die Untersuchung der Myxobakterien sehr erwünschte Eigenschaft, eine Trennung der zusammenhaftenden Individuen etwas zu erleichtern, eine Eigenschaft, die z. B. Formol nicht hat. In derselben Weise wirkt Flemingsche Lösung. Sehr zweckmäßig fand ich das Verfahren, die Organismen in Kartoffelabkochung 5 + 100 auf sterilen Deckgläschen oder Objektträgern wachsen zu lassen. Die hier an der Peripherie der Kolonieen liegenden Stäbchen haben einen für die Untersuchung hinreichend weiten Raum zwischen sich, sie haften fest an ihrer Unterlage und bilden, da ihnen einerseits jede lästige Molekularbewegung fehlt und sie andrerseits eine völlig natürliche Lage einnehmen, ohne gedrückt und gezerrt zu sein wie von Agar stammendes Material, ein ideales Untersuchungsobjekt.

Eine Eigentümlichkeit der untersuchten Myxobakterien, auf die noch von keiner Seite hingewiesen wurde, ist ihre schwache Lichtbrechungsfähigkeit, die entschieden hinter der gleich großer Oidien von Bakterien zurücksteht und die Beobachtung etwas erschwert.

Größe und Form.

Thaxter (1892) macht über die Form und Größe der Myxobakterienstäbchen einige allgemeine Angaben: „Die vegetativen Stäbchen bieten bei den verschiedenen Gattungen und Arten wenig Abwechslung in Größe und Form. In allen Fällen sind sie typisch länglich, manchmal erreichen sie eine Länge von 15 μ und während sie leben, zeigen sie die Neigung, an den Enden spitz auszulaufen. Diese Neigung verschwindet, wenn sie getötet werden und die Enden runden sich dann stumpf ab.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Die Stäbchen von Myxococcus ruber (F. 14a, 16, 17) haben nach Thaxter (1892) eine Länge von 3—7 μ und eine Breite von 0,4 μ, nach Quehl (1906, p. 18) eine Länge von 4—7 μ und eine Breite von 0,5 bis 0,8 μ. Stäbchen, die eine Breite von 0,6 μ überschreiten, habe ich nur in älteren Kulturen gefunden. Mit dem Alter der Kultur nehmen die Stäbchen aber im allgemeinen nicht wesentlich an Größe zu, nur die Keimstäbchen (F. 29) und die jüngsten Generationen sind etwas kleiner, für diese treffen die von Thaxter und Quehl angegebenen Minimalmaße zu.

Die Form der Myxococcus ruber-Stäbchen ist sehr konstant, die Stäbchen sind überall gleichmäßig dick und, wie Thaxter (1892) für alle lebenden Myxobakterienzellen angibt, an den Enden zugespitzt.

Die Polyangium fuscum-Stäbchen (F. 18) haben nach Thaxter eine Länge von 5—12 μ, eine Breite von 0,6 μ. — In ganz jungen Kolonieen habe ich Stäbchen von 0,5 μ Breite gemessen, in alten Kolonieen gelegentlich 1 μ breite (F. 11). Die von Thaxter angegebenen Größenverhältnisse treffen für die meisten Fälle zu. Die Maße Baurs (1905, p. 102), 0,6—0,8 × 15—20 μ treffen für überfütterte Stäbchen von Substraten mit reichlichem Nährgehalt zu (F. 22). Die Form der Stäbchen ist nicht so konstant wie bei Myxococcus ruber. Neben den gleichmäßig dicken Stäbchen (F. 18) habe ich häufig ausgesprochen spindelförmige gefunden (F. 11 und 22) und zwar auch auf Nährböden, die eine normale Entwicklung gestatten.

Die Größenverhältnisse der Stäbchen von Chondromyces crocatus sind nach Thaxter (1892) 2,5—6 × 0,6—0,7 μ. Ich habe zu meinen Messungen Reinkulturen verwenden wollen und, da man im günstigsten Falle nur ganz kümmerliche erhält, konnte ich nur wenig Messungen machen. Ich fand Stäbchen von 4—8 μ Länge und 0,6—0,8 μ Breite (F. 12). Die beobachteten Stäbchen besaßen stumpfe Enden.

Gegliederte Fäden.

Da das eventuelle Vorkommen von gegliederten Fäden eine gewisse Bedeutung für die Beurteilung der systematischen Stellung hätte, so habe ich das Verhalten der mir zur Verfügung stehenden Myxobakterien in dieser Beziehung eingehend untersucht. Thaxter (1892) gibt an, daß die Stäbchen, außer im Augenblick der Teilung, immer getrennt seien und, daß Bildung septierter Fäden niemals vorkomme. Ganz gleiche Angaben macht Baur (1905, p. 99). Ich habe auch niemals septierte Zellfäden gefunden, weder bei Myxococcus ruber, noch bei Polyangium fuscum und Chondromyces crocatus. Bei Myxococcus ruber habe ich versucht wie Kochsalzzusatz zum Substrat wirkt, der bei Bakterien die Septierung der Zellfäden und die Oidienbildung verlangsamt, die Zellfädenbildung begünstigt. (Vgl. A. Meyer: Über die Verzweigung der Bakterien, 1901, p. 55.) Durch Zusatz von 2 Proz. Kochsalz zu Kaninchenmistagar 10 + 100 wurden die Stäbchen in keiner Weise beeinflußt. Auf und in Substraten mit hohem Nährgehalt wachsen die Stäbchen von Myxococcus ruber und Polyangium fuscum häufig bis zu einer Länge von 20—40 μ. Diese Beobachtung konnte ich namentlich bei Verwendung von Dextroseagar machen. Ich untersuchte die Fäden genauer, fand aber niemals mehr als eine Einschnürung, die, wo sie vorhanden war, immer mehr oder weniger genau die Mitte des Fadens einnahm.

In Dextrose (0,5 Proz.) — Pepton (0,5 Proz.) — Nährlösung fand ich am 2.—3. Tage nach der Aussaat (die Kultur war bei 30° gehalten worden) überraschend zahlreiche Teilungsstadien. Die meisten Teilungshälften überstiegen die Länge von 2 μ nicht, es hingen niemals mehr als 2 Zellen zusammen, Bildung septierter Zellfäden war also auch unter diesen, derartiges bei den Bacillusarten begünstigenden Umständen, nicht eingetreten.

Schleim.

Der Name Myxobakterien, der von Thaxter offenbar wegen der Analogien, welche diese Organismen mit den Myxomyceten haben, gewählt worden ist, könnte die Vermutung nahelegen, daß eine reichliche Schleimbildung bei ihnen stattfinde. Ich sehe in der Literatur häufig den Schleim der Myxobakterien fast als etwas selbstverständliches erwähnt. So spricht Thaxter (1892) von den Myxobakterien im allgemeinen als von Zellen, die von einer kaum sichtbaren gelatinösen Lage umgeben seien; Baur (1905, p. 118) berichtet, daß Myxococcus ruber sich auf Pepton-Dextrose-Agar als ein fleischfarbener bis gelber Belag entwickele, aus Stäbchen und aus sehr reichlichem, fast zähem Schleim bestehend. Ich habe mir Mühe gegeben, bei Myxococcus ruber Schleimfärbung zu erhalten, ohne Erfolg. Ich wandte zunächst einfache konzentrierte Farblösungen von Fuchsin, Methylenblau, Hämatoxylin an, nachdem das Material angetrocknet war, dann versuchte ich die von Herrn Prof. Arthur Meyer (1907, p. 40) und von Lehmann und Neumann (1907, II. T., p. 656) angegebenen Schleimfärbemethoden. — Auch nach Löffler läßt sich kein Schleim färben. Für diese Versuche benutzte ich Material, bei dem man wohl mit relativ größter Wahrscheinlichkeit Schleim erwarten darf, nämlich schwimmende Kulturen von flüssigem Substrat. (s. Baur 1905, p. 117). Entscheidend für die Frage, ob Myxococcus ruber Schleim bildet oder nicht, dürften die mit Tusche angestellten Versuche sein. Verteilt man die Stäbchen genügend und setzt seitlich Tusche hinzu, so findet man, daß die Rußpartikelchen bis unmittelbar an die Stäbchen herantreten, ohne den kleinsten Hof zu bilden. (F. 9.) Während sich die Rußteilchen in nächster Umgebung der Stäbchen lebhaft bewegen, sind die unmittelbar an den Stäbchen liegenden vollkommen in Ruhe, ein Zeichen der klebrigen Beschaffenheit der Oberfläche. Ich habe Myxococcus ruber während seiner ganzen Entwicklung von der Aussaat bis zur Sporenbildung in dieser Weise untersucht, ohne jemals die Stäbchen auch nur von dem kleinsten Schleimhofe umgeben zu finden.

Polyangium fuscum bildet wenige Tage nach der Aussaat in Kartoffelabkochung 5 + 100 die beschriebenen mehr oder weniger dicht gefügten Ballen. Hier glaubte ich bestimmt, Schleim annehmen zu dürfen, doch sah ich mich getäuscht, ich erhielt nach dem Zerdrücken der Ballen und Zufügen von Tusche ganz entsprechende Bilder wie bei Myxococcus ruber. (F. 11.)

Auch die Stäbchen von Chondromyces crocatus, den kugeligen Massen, die die Anfangsstadien der Fruchtkörperbildung sind, entnommen, zeigten keine Spur von Schleim. (F. 10.)

Stäbchenhülle.

Der Frage, ob die Stäbchen eine Membran besitzen oder nicht, habe ich die größte Beachtung geschenkt, da eine Klarstellung dieser Verhältnisse für die Frage nach der systematischen Stellung der Myxobakterien von größter

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Bedeutung wäre. Zukal (1897, p. 545) gibt an, die Stäbchen von Chondromyces crocatus plasmolysiert zu haben, doch ist seine Angabe mit größter Vorsicht aufzunehmen, da er, wie aus der Beschreibung seines Kulturverfahrens hervorgeht, mit sehr unreinem Material arbeitete. Auch Baur hat der Untersuchung der Außenschicht Bedeutung beigelegt. Er (1905, p. 99) schreibt mit Bezug auf Myxococcus ruber: „Viele Mühe habe ich darauf verwendet, festzustellen, ob eine vom Plasma leicht abtrennbare Zellwand nachweisbar sei. Durch Plasmolyseversuche ergaben sich keine Anhaltspunkte. Salpeter, Kochsalz, Zucker, Glyzerinlösungen in den verschiedensten Konzentrationen plasmolysieren nicht. Bei Anwendung von Fixierungsflüssigkeiten, die eine Schrumpfung hervorrufen, 80-proz. Alkohol z. B., schrumpft die ja wohl vorhandene Wand ebenfalls mit ein, trennt sich aber nicht sichtbar vom Zelleib. Auch an nachträglich gefärbten derartigen Präparaten ließ sich keine Ablösung erkennen.“ Weiter sagt Baur: „Daß trotz der nicht eintretenden Plasmolyse eine feste Zellwand vorhanden ist, folgt daraus, daß die Stäbchen stets ihre bestimmte Form beibehalten, auch beim Anstoßen an feste Gegenstände, beim Durchkriechen durch enge Öffnungen kommen Stauchungen, Ausbeulungen oder dergleichen nicht vor.“ Etwas derartiges, wie Baur annimmt, ist in der Tat auch vorhanden, es läßt sich durch Färben sichtbar machen. Methylenblau 1 + 10 allein genügt zu diesem Zwecke nicht, wenn man aber vorher Jodjodkalium anwendet, so sieht man eine recht dünne optisch sich abhebende Grenzschicht. Man weiß aber nichts über den Charakter derselben. Ist sie ein vom Protoplasten getrenntes Gebilde, dient sie wie die Membran der normalen Pflanzenzelle als Widerlager des, durch den Turgordruck an sie gepreßten Protoplasten, oder ist sie eine Verdichtung des Protoplasmas an der Oberfläche, mit diesem in innigster Beziehung stehend, ähnlich wie die Pellicula bei tierischen Zellen, mit andern Worten ist sie ein ergastisches Gebilde oder ist sie ein alloplasmatisches Organ?

Zur Beantwortung der Frage kommen selbstverständlich in erster Linie plasmolytische Versuche in Betracht. Ich habe mir deshalb zuerst plasmolytische Erscheinungen bei einem Aspergillus und einigen Bacillus- und Spirillumarten etwas näher angesehen, um sie direkt mit dem Verhalten von Myxobakterien vergleichen zu können.

Plasmolytische Versuche: Aspergillus niger: Untersucht man Hyphen aus einer 20 Stunder alten, auf Dextrose-Agar bei 28° gezüchteten Kultur von Aspergillus niger, so findet man, daß die mit großen Vakuolen und wenig Reservestoffen (Fett, Volutin — F. 63) durch 10-proz. Kochsalzlösung sehr weitgehend plasmolysiert werden; es tritt eine Zerklüftung des Protoplasmas in einzelne, durch feine Plasmafäden verbundene, Ballen ein (F. 65). Bei, in gleicher Weise behandelten, reservestoffreichen Hyphen (F. 64), ist nur ein stellenweises Abgehobensein des Protoplasten von den äußeren Wänden und den Scheidewänden zu konstatieren (F. 66) — (Vergl. Eschenhagen 1889, Pantanelli 1904, Mayenburg 1901). Färbt man die Hyphen nach dem Plasmolysieren mit Methylenblaulösung 1 + 10, so tritt zunächst eine Verstärkung der Plasmolyse ein, dann geht diese aber allmählig mit der zunehmenden Färbung zurück. Fixiert man vor dem Färben mit Formol, so geht die Plasmolyse ebenfalls mehr oder weniger vollständig zurück, dagegen nicht nach Fixierung mit Osmiumsäure.

Bacillus oxalaticus Kuntze: Ich habe plasmolytische Versuche mit Bacillus oxalaticus gemacht, die folgendes ergaben: Oidien

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

aus verschieden alten Kulturen (Dextrose-Agar 28°) ließen sich mit 1, 2, 3, 5-, 10-proz. Kochsalzlösung, 3-proz. Salpeterlösung und konzentrierter Lithiumchloridlösung (s. Raciborski 1905. p. 461) nicht plasmolysieren.

Da bei Bacillus oxalaticus keine Plasmolyse zu erhalten war, ging ich dazu über, einige der von Fischer (Vgl. Fischer 1894. p. 521 u. 1903. p. 23) als impermeabel bezeichneten und plasmolysierbaren Bakterien zu untersuchen.

Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann: Das von Fischer zu seinen Versuchen benutzte Clostridium butyricum ist wohl identisch mit dem Bacillus amylobacter. In der 16 Stunden alten Kultur (Dextrose-Agar 28°) finden sich neben vielen homogen erscheinenden, teilweise lebhaft schwärmenden Oidien auch zahlreiche unbewegliche, die in ihrem Inhalte, namentlich an den Enden bei tiefer Einstellung dunkle (F. 68a), bei hoher Einstellung helle Körnchen zeigen (F. 68b). Wo mehrere dieser Körnchen zusammenliegen machen sie leicht den Eindruck einheitlicher Massen. Oidien mit diesen lichtbrechenden Massen können bei hoher Einstellung so aussehen wie plasmolysierte. Die Körnchen lösen sich in Chloralhydrat und färben sich mit Sudan, sind also Fetttröpfchen. Als weiterer, und zwar in größerer Menge vorkommender Reservestoff ist Iogen zu nennen, das mitunter die Stäbchen einseitig bis zur Mitte anfüllt, mitunter an beiden Enden liegt, meistens bilden aber die Iogenkörner eine breite Binde in der Mitte des Stäbchens (F. 69). Durch diese Iogenbinde in der Mitte wird das Protoplasma an die Enden des Oidiums gedrängt, man erhält daher bei Färbungen mit Methylenblau 1 + 10 Bilder (F. 70), bei denen an beiden Enden der Oidien gefärbte Massen liegen, während die Mitte frei ist, Bilder, die sehr an solche erinnern, wie sie durch Plasmolyse mit nachfolgender Färbung erhalten werden können. Plasmolyse wurde durch keine der vorher angegebenen Lösungen erzielt, die Stäbchen mit homogenem Inhalt behielten diesen, die andern blieben auch unverändert.

Bacillus fluorescens: (Bacillus fluorescens liquefaciens und non liquefaciens zeigten keinen Unterschied in den zu schildernden Erscheinungen). Benutzt wurde Material aus einer 16 Stunden alten Kultur (Dextrose-Agar 28°). Bei einem kleinen Teil der Oidien findet man nach Fixierung mit Osmiumsäure und Färben mit Methylenblau 1 + 10 (F. 71) an den Enden kugelige Massen unbekannter Natur. — Ich konnte das Eintreten der Plasmolyse gut beobachten wenn ich zu den in Wasser unter Deckglas liegenden Oidien seitlich etwas konzentrierte Kochsalzlösung zusetzte. Die ersten Anfänge der Plasmolyse sind bei diesen kleinen Objekten nicht zu sehen. Nur eine weit fortgeschrittene Plasmolyse kann an dem Körnigwerden des Oidieninhaltes erkannt werden. In einer 2-proz. Kochsalzlösung konnte ich noch bei wenigen Oidien Plasmolyse feststellen, in 3-proz. trat sie allgemein auf. In schwächeren als 2-proz. Lösungen sah ich keine Plasmolyse zustande kommen. Vielleicht war eine solche in ihren ersten Anfängen vorhanden, aber wegen der Kleinheit der Oidien nicht zu sehen. Das Körnigwerden des Protoplasmas allein genügt aber nicht, um Plasmolyse als solche zu konstatieren, von Plasmolyse kann man erst dann sprechen, wenn die Erscheinung allmählig zurückgeht und wenn eine mehr oder weniger weitgehende Trennung von Membran und Protoplasma zu sehen ist, was bei Bacillus fluorescens unter den angegebenen Bedingungen beides nicht der Fall war. Es wäre z. B. sehr wohl möglich, daß die Membran die Kontraktion des Protoplasten mitgemacht hätte. Fixiert man nach der Behandlung mit Kochsalzlösung mit

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Osmiumsäure und färbt mit Methylenblaulösung 1 + 10, so werden die einzelnen Plasmaportionen deutlich gefärbt, aber von einer Membran ist nichts zu sehen. Nur wenn man mit Jodjodkalium vorbehandelt, wird die Membran deutlich. (F. 72.) In derselben Weise erfolgt Plasmolyse und läßt sich als solche nachweisen wenn man die Oidien mit 1-proz. Kochsalzlösung antrocknen läßt. Zur Prüfung der Frage, ob nicht vielleicht eine ähnliche Erscheinung wie die Plasmolyse durch bloßes Antrocknen erfolgen könne, wusch ich das zu untersuchende Material zunächst wiederholt mit destiliertem Wasser aus, ließ antrocknen und färbte mit alkoholfreier Methylenblaulösung 1 + 10. Unter diesen Umständen blieb der Inhalt völlig homogen.

Spirillum volutans Kutscher. Besser als bei den kleinen Oidien des Bacillus fluorcescens lassen sich die plasmolytischen Erscheinungen bei den relativ großen Oidien von Spirillum volutans beobachten. Dieser Organismus enthält, namentlich wenn er häufig umgeimpft wird, reichliche Mengen von Fett und Volutin. Durch Einlegen in eine 2-proz. Kochsalzlösung ließ sich Plasmolyse hervorrufen, die nach ca. 15 Minuten zurückzugehen begann und nach ca. 30 Minuten vollständig zurückgegangen war. Hierbei ist die Membran, von der sich das Protoplasma abhebt, deutlich zu sehen, ohne, daß eine besondere Färbung notwendig wäre (F. 74). Diese Beobachtungen konnte ich an Spirillum volutans-Oidien machen, die einen durchaus gesunden Eindruck machten (große lebhaft bewegliche Oidien, kräftiges Wachstum). Material aus einer andern Kultur, die stark degeneriert erschien (kleine unbewegliche Oidien, kümmerliches Wachstum) erwies sich als nicht plasmolysierbar.

Spirillum rubrum Esmarch, das ich mit den angegebenen Mitteln behandelte, erwies sich als nicht plasmolysierbar.

Da es mir nur darauf ankam, eine Trennung des Protoplasten von der Membran zu bewirken, so suchte ich nach weiteren Mitteln, durch die dies erreicht werden kann. Färbt man Bacillus oxalaticus-Oidien aus einer nicht zu alten Dextrose-Agar-Kultur mit Methylenblau 1 + 10, so findet man, daß sich bei einer gewissen Anzahl von Oidien der Protoplast von der Membran abhebt. Meine Vermutung, daß der Alkohol in dem Färbemittel diese Wirkung hervorrufe, erwies sich als richtig, durch nachträglichen Zusatz von 95 proz. Alkohol trat die Abhebung des Protoplasten von der Membran bei vielen Oidien auf, bei denen sie vorher nicht festgestellt war, durch eine alkoholfreie Methylenblaulösung 1 + 10 ließ sie sich nicht hervorrufen. Dieser Schrumpfung des Protoplasten durch Alkohol und alkoholhaltige Färbemittel ist bei plasmolytischen Untersuchungen Beachtung zu schenken, da durch sie unter Umständen dort Plasmolyse vorgetäuscht werden kann, wo sie nicht vorhanden ist. Ich habe diese Erscheinung daher näher untersucht.

Nicht bei allen Oidien von Bacillus oxalaticus und in allen Entwicklungsstadien kann man sie hervorrufen. Oidien aus 8 Stunden alten Kulturen (Dextrose-Agar 28°) in der angegebenen Weise behandelt, zeigten nicht die geringste Protoplasmaschrumpfung, dagegen fanden sich in 16 Stunden alten Kulturen und älteren zahlreiche solche Oidien. Besonders die langen unseptierten Fäden sind sehr interessant (F. 67). Hier hat sich der Protoplast mehr oder weniger ausgiebig von der Membran zurückgezogen, so daß diese an den betr. Stellen scharf zu sehen ist, außerdem hat er sich in ähnlicher Weise zerklüftet wie für die Plasmolyse vakuolreicher Aspergillushyphen beschrieben. Die getrennten Protoplasmaballen sind durch feine Fäden verbunden; in dem kontrahierten Protoplasma sind noch zahlreiche Vakuolen zu sehen. Meist sieht man bei der Alkoholschrumpfung einseitige Abhebung von der Membran. Setzt man Wasser zu, so geht die Schrumpfung meistens schnell zurück, es ist deshalb zweckmäßiger, vor dem Zusatz des Alkohols zu färben, da der Wassergehalt der Färbemittel die Schrumpfung ganz oder teilweise aufheben kann.

Interessant war die Frage, ob bei Aspergillus niger auch durch Alkohol ein Abheben des Protoplasten von der Membran erfolgt. Es wurde 5-, 10-, 95-proz. Alkohol und alkoholische Methylenblaulösung angewandt, ohne, daß etwas derartiges eintrat.

Bei Bacillus amylobacter, Spirillum volutans und Spirillum rubrum trat durch Alkoholbehandlung keine Abhebung des Protoplasten von der Membran ein, wohl aber bei Bacillus fluorescens, und zwar war hier die Kontraktion des Protoplasten weitgehender als bei der Plasmolyse durch konzentrierte Kochsalzlösung (F. 73). Die Membran ließ sich nach der Alkoholbehandlung durch Jodjodkalium-Methylenblau sichtbar machen.

Diese Untersuchungen haben leider ergeben, daß man aus dem Ausbleiben der Plasmolyse und dem Schrumpfen bei Alkoholbehandlung nicht auf das Fehlen einer als ergastisches Gebilde zu betrachtenden Membran schließen kann, denn wir haben ja gesehen, daß sich die verschiedenen Bakterienspezies, deren Membran man genau kennt, bei der Behandlung mit den besprochenen Reagentien ganz verschiedenartig verhalten.

Ich ging nun dazu über, die mir zur Verfügung stehenden Myxobakterien auf ihre Plasmolysierbarkeit und ihr Verhalten gegen Alkohol zu prüfen.

Zahlreiche Versuche, bei den vegetativen Stäbchen von Myxococcus ruber und Polyangium fuscum und bei den zur Fruktifikation schreitenden Stäbchen von Chondromyces crocatus durch osmotisch wirksame Lösungen in den verschiedensten Konzentrationen (1, 2, 3, 5, 10proz. und konzentrierte Kochsalzlösung, 2, 3, 5proz. Salpeterlösung und konzentrierte Lithiumchloridlösung), Plasmolyse hervorzurufen, schlugen fehl, ebenso Versuche, durch Alkohol Trennung des Protoplasten von einer Membran zu bewirken. Durch Jodjodkalium wird bei gewissen Bakterienspezies (s. A. Meyer 1901, Taf. XX, Fig. 22, und Grimme 1902. p. 322) eine Abhebung des Protoplasten von der Membran hervorgerufen, die Fischer (1894. p. 521) als „eine mit Gerinnung des Inhalts verbundene Plasmolyse" auffaßt. — Die angegebenen Myxobakterien zeigten auch nach Behandlung mit Jodjodkalium die betr. Erscheinung nicht.

Die Frage, ob bei den untersuchten Myxobakterien eine Membran vorhanden ist oder nicht, ließ sich nicht mit Sicherheit lösen, doch sprechen folgende Punkte sehr dagegen:

1) Durch Alkohol, schon in so schwacher Verdünnung, wie er in der Farblösung Methylenblau 1 + 10 vorliegt, schrumpfen die Myxococcus ruber- und Polyangium fuscum-Stäbchen (vgl. Baur p. 99). Außer Alkohol rufen Stoffe, die töten, ohne stark zu fixieren, wie Phenol, Kontraktion hervor. (F. 13. Vgl. die Figurenerklärung!) Ganz besonders stark läßt Kalilauge die Stäbchen schrumpfen. Durch die Kontraktion erfahren die Stäbchen keine Änderung ihrer Gestalt, nur die Größe wird reduziert. Fixiert man sie vorher mit Osmiumsäure, so wird die Wirkung der kontrahierenden Stoffe entweder aufgehoben oder abgeschwächt (F. 14. Vgl. die Figurenerklärung!). Phenol hat nach dem Fixieren keine Wirkung. Durch Antrocknen schrumpfen die Stäbchen auch ganz erheblich. Eine derartige Kontraktion schon beim Abtöten und namentlich beim Be-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

handeln mit gewissen Mitteln, besonders Kalilauge, vorzüglich auch die starke Schrumpfung beim Eintrocknen, spricht gegen das Vorhandensein einer Membran[1]).

2) Unter den Oidien älterer Bakterienkolonieen findet man meist eine ganze Anzahl solcher, bei denen der protoplasmatische Inhalt verschwunden und nur noch die Membran übrig geblieben ist. Bei den untersuchten Myxobakterien habe ich trotz eifrigen Suchens niemals solche leeren Stäbchen gefunden.

3) Die von Thaxter (1892) und Baur (p. 105) beobachtete Flexibilität der Myxobakterienstäbchen, die im schärfsten Gegensatz zu der durch die Membran bedingten Starrheit der Bacillusoidien steht.

4) Die Beobachtung Thaxters (1892), daß sich die im lebenden Zustande etwas zugespitzten Enden der Stäbchen nach dem Tode abrunden.

Schließlich darf man vielleicht auch die Besonderheit der von mir in dieser Richtung untersuchten Stäbchen von Myxococcus ruber und Polyangium fuscum, sich durch schwache Farblösungen, z. B. Methylenblau 1 + 100 relativ schnell und intensiv zu färben, im Gegensatz zu den zum Vergleich herangezogenen Bakterienspezies: Bacillus oxalaticus, asterosporus, tumescens auf das Fehlen einer Membran zurückführen.

Die chemische Beschaffenheit der Oberflächenschicht des Myxococcus ruber ist schon von Baur (p. 99) berücksichtigt worden, er gibt an, daß Farbreaktionen auf Zellulose negativ ausfielen. Ich fand diese Angabe für Polyangium fuscum und Myxococcus ruber bestätigt. Ich benutzte Chlorzinkjod, nachdem ich mit Eau de Javelle vorbehandelt hatte. (s. A. Meyer 1907. p. 39.) Ebenfalls negativ fielen Reaktionen auf Chitin aus, die ich nach der Vorschrift van Wisselinghs machte (1898. p. 619). Kontrollversuche mit Pilzhyphen gelangen stets.

Wie die Oberfläche der Stäbchen beschaffen ist, läßt sich nicht sicher sagen. Ich mache nochmals darauf aufmerksam, daß sich mit Jodjodkalium-Methylenblau eine „Pellicula" färben läßt, sodaß man wohl annehmen darf, daß eine alloplasmatische Hautschicht vorhanden ist. Diese Hautschicht ist außen unbedingt stark klebrig (Anhaften kleiner Rußteilchen, festes Zusammenhaften der Stäbchen zu einer Kolonie, Fehlen jeglicher Molekularbewegung nach dem Aufstreichen auf Objektträger), ohne daß eine Schleimschicht an ihr nachgewiesen werden kann. Da, wie wir sehen werden, die Bewegungserscheinungen höchst eigenartige sind, so nehmen wir an, daß die Haut die Bewegung vermittelt.

Inhalt der Stäbchen.

Über die Einschlüsse und die innere Struktur der Myxobakterienzelle ist nur sehr wenig bekannt geworden. Thaxter (1892) schreibt, der Zellinhalt sei gewöhnlich als deutlich körnige Masse sichtbar, Zukal (1897. p. 542) spricht von Vakuolen und vereinzelten glänzenden Körnchen.

In ungefärbten Zellen sind körnige Massen zu sehen, wenn sie nicht für die Beobachtung zu klein sind, Vakuolen habe ich auch, allerdings recht selten, gesehen, und glänzende Körnchen, die später besprochen werden sollen, nur in bestimmten Entwicklungsperioden.

Ich habe zu den Untersuchungen über den Zellinhalt die vegetativen

---

[1]) Behandelt man Amöben von Polysphondylium mit 2proz. Phenollösung, so kugeln sie sich, ihre Konturen werden unscharf, erhebliche Kontraktionen wurden nicht beobachtet. Durch 10proz. Kalilauge werden die Amöben völlig zerstört.

Stäbchen von Myxococcus ruber und Polyangium fuscum benutzt und gelegentlich die, sich zur Fruktifikation anschickenden Stäbchen von Chondromyces crocatus. Prinzipielle Unterschiede sind nicht vorhanden, doch sind wohl einzelne Abweichungen unbedeutender Art zu verzeichnen.

Myxococcus ruber: Einen genaueren Aufschluß über den Zellinhalt erhält man durch geeignete Färbemethoden. Ich versuchte zunächst die für die Bakterienfärbung allgemein angewandten Färbemittel: Methylenblau 1 + 10, Fuchsin 1 + 10, Eosin (5 Proz.), Jodjodkalium (konz. Lös.). Durch alle diese Mittel werden die Stäbchen im ersten Augenblick homogen gefärbt; nach kurzer Einwirkung erscheinen in den Stäbchen, die, wie schon angegeben, durch diese Mittel etwas kontrahiert werden, an verschiedenen Stellen Binden und Ballen. Häufig sieht man an beiden Enden große Kugeln, meistens in der Mitte breite Binden. Fixiert man die Stäbchen vor der Färbung mit Osmiumsäure, so fällt zwar die Kontraktion ganz oder fast ganz fort, der Inhalt zeigt aber dieselben Bilder (F. 16). Man erhält ganz andere, viel bestimmtere Bilder, wenn man Färbemittel anwendet, die weniger energisch auf die Zelle einwirken. Färbt man Stäbchen von Myxococcus ruber — man benutzt wegen der in Stäbchen aus alten Kulturen vorkommenden Reservestoffe am besten solche aus jungen — mit Methylenblau 1 + 100 in der noch zu beschreibenden Weise, so werden in ihnen regelmäßig zwei Körperchen sichtbar, die meist die Form kurzer Binden haben (F. 17). Sie sind meist der Mitte der Stäbchen genähert, können aber auch weiter nach den Enden zu liegen. Ihre Form ist etwas schwankend, statt kurzer Binden können es auch, jedoch seltener, kugelige Ballen sein. Mitunter sieht es aus als ob mehr als zwei Körperchen vorhanden wären, drei oder vier. In solchen Fällen sah ich meistens, nicht immer, feine Verbindungen zwischen den einzelnen Körperchen, so daß doch nur zwei getrennte Partieen vorhanden waren.

Die von mir meist angewandte Färbemethode bestand darin, daß ich das auf dem Deckglase gewachsene oder auf dasselbe gestrichene Stäbchenmaterial 10 Minuten mit Flemingscher Lösung behandelte, das Deckgläschen mit Wachsfüßchen versah, auf dem Objektträger befestigte und nun so lange Methylenblau 1 + 100 durchsaugte, bis die Färbung kräftig genug war. Wurde die Färbung zu intensiv, so ließ sie sich durch Durchsaugen von Wasser abschwächen, und zwar bis zum vollständigen Verschwinden.

Dieselben Bilder erhielt ich bei gleicher Behandlung der vegetativen Stäbchen von Polyangium fuscum (F. 18). Da der Gedanke nahe lag, daß es sich bei den beiden beschriebenen Körperchen um Kerne handle, so wurden mit den üblichen Kernfärbemitteln Versuche gemacht. Die Stäbchen von Polyangium fuscum und besonders, die von Chondromyces crocatus sind größer als die von Myxococcus ruber, ich verwandte daher die ersteren zu den Untersuchungen. Fixiert man die jungen Stäbchen von Polyangium fuscum 10 Minuten mit Flemingscher Lösung, wässert darauf 2 Stunden und färbt dann 15 Stunden mit einem Gemisch ½ Wasser, ½ Delafieldsches Hämatoxylin, so erhält man ganz dieselben Bilder wie durch Färbung mit Methylenblau 1 + 100.

Die relativ recht großen Stäbchen von Chondromyces crocatus würden ein für die Untersuchung besonders geeignetes Objekt sein, leider waren die Reinkulturen von Chondromyces crocatus zu kümmerlich, um genügend reichliches Untersuchungsmaterial zu liefern. Ich konnte daher keine jungen, reservestoffreien Stäbchen verwenden, sondern war, wenn ich möglichst reines Stäbchenmaterial verwenden wollte, auf das angewiesen, welches bei noch nicht fertig ausgebildetem Fruchtkörper dem Cystophor als kugelige Masse aufsitzt. Allerdings handelt es sich hier um Stäbchen, die keineswegs ohne weiteres mit jungen Stäbchen auf gleiche Stufe gestellt werden dürfen, da sie im Fruktifikationszustande befindlich, diesen gegenüber äußerliche und innerliche charakteristische Verschiedenheiten aufweisen. Aber, wie ein Vergleich der Stäbchenformen beider Perioden bei Polyangium fuscum lehrt, erfahren die in Frage stehenden Verhältnisse in der Fruktifikationsperiode keine wesentlichen Veränderungen. Dasselbe darf man wohl von den Chondromyces crocatus-Stäbchen erwarten.

Für die Stäbchen von Chondromyces crocatus benutzte ich folgende Kernfärbungsmethode (vgl. Arth. Meyer 1908. p. 338): Ich fixierte eine Stunde mit Flemingscher Lösung, ließ nach 4stündigem Wässern Ferriammoniumsulfatlösung 10 Stunden einwirken, und dann, nachdem ich mit Wasser abgespült hatte, 20 Stunden Hämatoxylinlösung. Nicht differenziert zeigten die Stäbchen nun außer den später zu besprechenden Reservestoffen in der Mitte meist eine breite Binde, seltener einen langgestreckten Körper (F. 19). Mit 1proz. Schwefelsäure differenziert verschwand die Binde sofort, während die Reservestoffe deutlicher hervortraten (F. 20). Nach längerem Differenzieren mit einem Gemisch von 1 ccm Wasser und 1 Tropfen 1proz. Schwefelsäure erschienen in der Mitte der Stäbchen regelmäßig zwei Körperchen in Gestalt von Binden, seltener kugeligen Ballen (F. 21).

Nach dem, was wir über die Körperchen wissen, scheint es nicht unwahrscheinlich, daß es sich bei ihnen um Kerne handelt. Die erhaltenen Bilder sprechen ja allerdings nicht mit Sicherheit dafür, aber die Vorgänge bei der Zellteilung, der Sporenbildung und Sporenkeimung legen den Gedanken an Kerne doch sehr nahe.

Bestimmtere Angaben lassen sich von den übrigen in den Myxobakterienstäbchen vorkommenden Einschlüssen, den Reservestoffen, machen. Für die Untersuchung derselben habe ich die Stäbchen von Myxcoccus ruber und Polyangium fuscum benutzt. Am reichlichsten vorhanden und am leichtesten nachzuweisen sind Reservestoffe in Stäbchen von Substraten mit reichem Nährstoffgehalt, z. B. Dextroseagar, Dextrose (0,5 Proz.)-Pepton (0,5 Proz.)-Lösung. Sowohl bei Myxococcus ruber, als auch bei Polyangium fuscum, namentlich aber bei letzterem, findet man 3—4 Tage nach der Aussaat Stäbchen, die bei hoher Einstellung helle, lichtbrechende, bei tiefer dunkle kugelige Körnchen enthalten (F. 22). Häufig sind diese nur in Einzahl vorhanden, oft auch zu mehreren. Ihre Größe ist schwankend von der Grenze der Sichtbarkeit bis zu einem Durchmesser, der den der Zelle erreicht. Mitunter liegen solche großen Kugeln in den Stäbchen in regelmäßigen Abständen hintereinander und geben ihnen ein eigenartiges Aussehen. Färbt man mit Methylenblau 1 + 100, so treten die Kugeln noch deutlicher hervor, da sie sich durch ihr Farblosbleiben von dem übrigen gefärbten Teil des Inhaltes abheben. Die Kugeln lassen sich mit Sudanlösung rot färben und, da die übrigen Fettreaktionen (vgl. A. Meyer 1903. p. 86) auch positiv ausfallen, so weisen sie sich als Fettröpfchen aus. Das Fett bildet die Hauptmenge der Reservestoffe. Im übrigen Teile des durch Methylenblau 1 × 100 gefärbten Stäbcheninhaltes fallen neben matter gefärbten Binden und Ballen, die sich aus den durch die Reservestoffe teilweise verdrängten Plasmapartieen und den früher besprochenen beiden Körperchen rekrutieren, kleine intensiv gefärbte Körnchen auf. Auf Zusatz von 1 proz. Schwefelsäure behalten diese Körnchen ihre Färbung, während sich die übrigen Einschlüsse vollständig entfärben. Die Körnchen sind Volutanskugeln, denn auch die übrigen Volutinreaktionen (vgl. A. Meyer 1903. p. 82) bestätigen dies.

Andere Reservestoffe scheinen nicht vorzukommen, Glykogen z. B. konnte ich weder in überfütterten Stäbchen nachweisen, die reichlich Fett und Volutin enthielten, noch in normal ernährten zu irgend einer Zeit ihrer Entwicklung.

Das Auftreten und Verschwinden der Reservestoffe ist an bestimmte Entwicklungsphasen der Stäbchen geknüpft. Da ich die Untersuchung über das Vorkommen von Reservestoffen bei Myxococcus ruber mit Material von Kaninchenmistagar 10 + 100 vornahm, so ist der Entwicklungsgang zu berücksichtigen, den der Organismus auf diesem Substrat durchläuft. Die Keimung der Sporen tritt nach 5 Stunden ein, die Fruchtkörperbildung nach 4—5 Tagen bei einer Temperatur von 30°.

Die Ausbreitung der Kolonie erfolgt von der Impfstelle aus kreisförmig. Um vergleichbares Material zu bekommen, muß man dasselbe immer in gleichem Abstande von dem Mittelpunkte des Kreises entnehmen. Ich wählte eine Entfernung von etwa 3 mm, da die Kolonie 24 Stunden nach der Aussaat bei punktförmiger Impfung einen Durchmesser von ca. 5 mm hat. In den Keimstäbchen und in den bis zu 30 Stunden alten Stäbchen ist kein Reservestoff nachzuweisen. Dann treten in ganz wenigen Stäbchen Fettkugeln auf. Unter den 50 Stunden alten Stäbchen bemerkt man eine etwas größere Anzahl mit den lichtbrechenden Körnchen. Erst viel später als Fett tritt Volutin auf, ich konnte das Vorhandensein dieses Reservestoffes erst bei einzelnen Stäbchen im Alter von 75 Stunden konstatieren. Beide Reservestoffe werden auf Kaninchenmistagar 10 + 100 nur in bescheidenem Maße gebildet. 100 Stunden alte Stäbchen sind meist in den Sporulationszustand eingetreten. In diesem Alter fand ich nur bei Stäbchen, die noch nicht angefangen hatten, sich in der Längsrichtung zu kontrahieren, teilweise etwas Fett und Volutin.

b) Stäbchen von anormaler Form.

Über das Vorkommen anormaler Stäbchen hat bereits Quehl (1906. p. 29) Mitteilungen gemacht, er erwähnt Stäbchenformen auf Nährböden mit hohem Peptongehalt, die die normale Länge bedeutend überschreiten, dabei die normale Dicke besitzen. Ich habe diesen Mitteilungen nur weniges hinzuzufügen: Die anormale Form wird bei den Myxobakterien in erster Linie durch Überfütterung erzeugt, anscheinend nicht, wie vielfach bei Bakterien (vgl. A. Meyer: Über Verzweigung der Bakterien 1901. p. 55 und A. Maaßen 1904) durch Änderung des osmotischen Wertes des Substrates. Zusatz von 2 Proz. Kochsalz zu Kaninchenmistagar 10 + 100 änderte die Form der Myxococcus ruber-Stäbchen nicht. Entsprechend ihrer Formveränderung durch Überfütterung enthalten die anormalen Stäbchen durchweg reichlich Reservestoffe, namentlich Fett. Neben anormal langen Stäbchen fand ich in einer Myxococcus ruber-Kultur auf 3 proz. Peptonagar stark verdickte, teilweise verkürzte Stäbchen mit mehr oder weniger unregelmäßiger Oberfläche (F. 23).

In Dextrose (0,5 Proz.)-Pepton (0,5 Proz.)-Lösung fielen mir Stäbchen von Polyangium fuscum auf, die teilweise sehr lang und dick, dabei von regelmäßiger Form, teilweise kürzer und dann von recht unregelmäßiger Oberfläche waren. Besonders eigenartigen Eindruck machten die hier häufigen schneckenförmig eingerollten Stäbchen (F. 22).

c) Teilung der Stäbchen.

Thaxter (1892) sagt, die Zellteilung folge einer Verlängerung und einer beinahe in der Mitte stattfindenden Kontraktion der Stäbchen. Baur (1905. p. 99) berichtet mit Bezug auf Myxococcus ruber: „Als erstes Anzeichen der beginnenden Teilung zeigt sich an der Stelle der späteren Durchtrennung, also etwa in der Mitte des Stäbchens, ein heller Punkt. Weiterhin erfolgt hier eine allmähliche Einschnürung, bis schließlich die beiden Tochterzellen auseinander reißen.“ Helle Punkte, wo sie in Einzahl vorhanden waren, meist in der Mitte der Zelle liegend, habe ich bei Myxococcus ruber häufig beobachtet, es handelte sich um Fettröpfchen. Da Baur, wie er selbst angibt, die Teilung ja nicht kontinuierlich verfolgt hat, so scheint es mir nicht ganz ausgeschlossen zu sein, daß seine hellen Punkte Fettkugeln gewesen sind. Ich habe meine Untersuchungen mit Myxococcus ruber-Stäbchen gemacht, die 1—2 Tage in Pepton (0,5 Proz.)-Dextrose (0,5 Proz.)-Lösung gewachsen waren, da unter diesen Verhältnissen auffallend viele Teilungsstadien zu finden sind. Äußerlich auffällig ist bei der Teilung die breite Zone, die gleich beim Beginn der Teilung kontrahiert wird (F. 24). Die weiteren Stadien der Zellteilung lehren, daß ein Auseinanderziehen der sich teilenden Zelle unter steter Verbreiterung der Kontraktionszone und stetem Dünnerwerden derselben bis zur Grenze der Sichtbarkeit erfolgt. Von besonderer Wichtigkeit ist die Frage, ob vor der Durchtrennung eine Membran angelegt wird, etwa wie Herr Prof. A. Meyer (1897. p. 202) und Migula (1897. p. 139) für die Bakterien beschreiben. Eine einwandsfreie Lösung der Frage ist mir vielleicht wegen der Kleinheit der Untersuchungsobjekte nicht gelungen. Beim ungefärbten Präparate sieht man nichts von einer Membran, beim gefärbten läuft man Gefahr, die an der Stelle der stärksten Kontraktion als ein Strich erscheinende Farbstoffanlagerung als Membran zu deuten. Die Möglichkeit einer derartigen Verwechslung kann man besser ausschließen, wenn man sehr schwache Farblösungen anwendet, als wenn man stärkere benutzt. Nach dem Färben mit Methylenblau 1 + 100 habe ich bei schärfster Einstellung auf die Verbindungsbrücke stets den Eindruck gehabt, daß hier keine Membran vorhanden war. Bei Stäbchen, die keine Kontraktion zeigen, habe ich niemals eine Membran auffinden können. Wenn überhaupt eine Membran gebildet wird, die sich bei der Teilung spaltet, so kann das nur ganz unmittelbar vor, resp. während der Durchtrennung geschehen. Die eigentümliche Art und Weise der Teilung, die einem Auseinandergezogenwerden einer zähen Masse entspricht, das Auftreten einer so langen Kontraktionszone gleich beim Beginn der Teilung macht das Vorhandensein einer vorgebildeten Membran nicht wahrscheinlich.

Interessant ist das Verhalten der beschriebenen beiden, vielleicht Zellkerne seienden, Körperchen bei der Teilung. Das angegebene Untersuchungsmaterial enthielt mäßig Fett, das ja nicht stört und so wenig Volutin, daß man dasselbe nicht zu berücksichtigen brauchte, nur in einzelnen Stäbchen kamen kleine Volutanskugeln vor. Ich verfuhr bei der Untersuchung in der Weise, daß ich zunächst das Material 10 Minuten mit Flemingscher Lösung fixierte, dann 2 Stunden wässerte und mit Methylenblau 1 + 100 in der beschriebenen Weise färbte (F. 24). Die Körperchen erscheinen im Teilungsstadium etwas distinkter als sonst. Die Einschnürung der Zelle erfolgt in allen Fällen zwischen den beiden Körperchen, die stets der Mitte genähert sind. Es kommen lange, in der Mitte kontrahierte Zellen vor, bei denen in jeder Hälfte ein Körperchen liegt und solche, bei denen in jeder Hälfte zwei liegen, die dann meist durch eine weniger gefärbte Masse verbunden erscheinen. Ferner kommen kürzere Zellen vor mit einem, und solche mit zwei Körperchen. Die Bilder lehren, daß bei der Teilung der Zellen die Teilungszone zwischen den beiden Körperchen liegt, letztere teilen sich entweder schon während der Teilung der Zelle oder erst später, so daß die Teilprodukte zunächst entweder ein oder zwei Körperchen enthalten.

d) Bewegung der Stäbchen.

Die Myxobakterienstäbchen zeigen nach Thaxter (1892) eine langsame, aber deutliche Fortbewegung, verbunden mit einer seitlichen Bewegung. Diese seitliche Bewegung hält Thaxter für einen wichtigen Faktor der Fortbewegung. Baur (1905. p. 105), der eingehende Studien über die Bewegung der Stäbchen gemacht hat, hält diese Meinung Thaxters nicht für richtig. Ich schließe mich seiner Ansicht an, da ich die Stäbchen von Polyangium fuscum und Myxococcus ruber sich viel häufiger ohne seitliche Bewegung als mit dieser vorwärtsbewegen sah. Auch die schneller erfolgenden eigentümlich pendelnden Bewegungen, die die Stäbchen ausführen, wenn sie mit einer Seite von ihrer Unterlage abgekommen sind, habe ich gesehen. Im übrigen habe ich mich mit diesen interessanten Erscheinungen nur insoweit beschäftigt, als ich zahlreiche Geißelfärbungsversuche nach der Löfflerschen Methode mit Myxococcus ruber, Polyangium fuscum (vegetative Stäbchen) und Chondromyces crocatus (Stäbchen, die sich zum Fruktifizieren anschickten) gemacht habe, ohne irgend welche Anhängsel aufzufinden.

5. Sporen.

a) Morphologie der Sporen von Myxococcus ruber.

Größe und Form.

Der Durchmesser der Sporen beträgt im Mittel 1,1 μ. Die Form ist kugelrund. Gelegentlich habe ich aber auch, allerdings selten, ovale Sporen gefunden, die sich als solche durch das Vorhandensein einer dicken Hülle nachgewiesen (F. 25).

Schleim.

Die Sporen werden zu den kugelförmigen Haufen, die sie bilden, nicht durch ein besonderes Substrat zusammengehalten, auch fehlt ihnen jede Spur einer Schleimhülle. (Vgl. Baur 1905. p. 101). Das geht schon daraus hervor, daß die sich bewegenden Sporen unter dem Deckglas unmittelbar an einander vorbei gleiten. Bestätigt wird das Nichtvorhandensein von Schleim dadurch, daß beim Zubringen von Tusche unter das Deckglas die Rußteilchen bis unmittelbar an die Oberfläche der Sporen dringen.

Die Hülle der Sporen.

Thaxter (1897) hat für die Myxococcus Sporen eine dicke, von Farbstoffen schwer durchdringbare Membran angegeben. — Bei ungefärbten Sporen ist nichts von einer Hülle wahrnehmbar. Plasmolyse konnte ich durch NaCl- und KNO_3-Lösungen in den verschiedensten Konzentrationen nicht erreichen. Aus diesem Grunde und wegen der bei der Sporenkeimung obwaltenden Verhältnisse ist es wahrscheinlich, daß es sich bei der Außenschicht der Spore, ebenso wie bei der des Stäbchens, um ein alloplasmatisches Organ handelt. Ich vermeide daher für die Sporenhaut den Ausdruck Membran. Durch konzentriertere, osmatisch wirksame Lösungen wird eine Schrumpfung der gesamten Spore erzielt[1]). Durch Färbung mit Methylenblau 1 + 10 oder Fuchsin 1 + 10 konnte ich keine Hülle nachweisen, das gelang aber entweder dadurch, daß ich so lange Methylenblau 1 + 100 unter dem Deckglase hersaugte, bis die Färbung eingetreten war, oder dadurch, daß ich zunächst mit Methylenblau 1 + 10 färbte und dann unter dem Deckglase bei ständiger Beobachtung mit Wasser nachwusch (F. 25). Nach diesem Verfahren konnte ich nicht nur die Sporenhülle nachweisen, sondern auch einen Einblick in die innere Struktur der Spore gewinnen. Die Hülle hat die Eigentümlichkeit, daß man den Farbstoff sehr leicht so vollkommen wieder aus ihr auswaschen kann, daß von ihr nichts mehr zu sehen ist. Die Oberfläche der Hülle hat eine klebrige Beschaffenheit, das erkennt man daran, daß, auf das Deckglas aufgestrichene Sporen, ohne daß man sie antrocknen lassen muß, zum größten Teil fest sitzen bleiben, wenn man Flüssigkeiten unter dem Deckglas hersaugt. Diese Eigentümlichkeit macht es möglich, daß die Sporen, ohne in einem besonderen Substrate eingebettet zu sein, kugel- oder birnenförmige Fruchtkörper bilden.

Ich habe versucht, den protoplasmatischen Inhalt der Sporen aus der Hülle herauszulösen, wie es Ellis (1903. p. 8) mit Bakteriensporen gemacht hat durch Behandlung mit Eau de Javelle (1 T. Eau de Javelle, 2 T. Wasser), das gelang aber nicht. Die Sporen schrumpfen stark zusammen und werden zu unregelmäßigen strukturlosen Massen, die nach einiger Zeit gänzlich aufgelöst werden (s. Anm.)[2]).

Die Hülle besteht weder aus Zellulose noch aus Chitin wie entsprechende Untersuchungen, wie sie bei der Hülle der Stäbchen angestellt wurden, zeigten.

Inhalt der Sporen.

Über den Inhalt der Sporen finden sich in der Literatur einige Mitteilungen: Thaxter (1897) sagt, daß in der noch nicht ganz fertigen Spore ein zentraler färbbarer Körper nachweisbar sei, auch Baur macht entsprechende Angaben, beide behaupten, daß von dem Inhalte der fertigen Spore nichts oder nur wenig zu sehen sei.

Wenn man mit zu konzentrierten Farbmitteln, etwa mit Methylenblau 1 + 10 oder Fuchsin 1 + 10 färbt, so kann man in der Tat von dem Inhalte nichts erkennen. Färbt man aber mit schwacher Farblösung unter steter Beobachtung, z. B. mit Methylenblau 1 + 100, so kann man auch bei der fertig ausgebildeten Spore feststellen, daß zwei gefärbte, teils kugel-, teils sichelförmig erscheinende Körperchen darin liegen (F. 25). Es ist wahrscheinlich, daß stets zwei Körperchen in Form von gebogenen Spindeln vorhanden sind, die nur bei entsprechender Lagerung der Sporen kugelförmig aussehen.

---

[1]) Behandelt man Sporen von Polysphondylium mit 10proz. Kochsalzlösung, so tritt Plasmolyse ein. Der Protoplast wird unregelmäßig von der Membran abgehoben. Zusatz von Chlorzinkjod läßt die Membran besonders an den Stellen, wo das Protoplasma abgehoben ist, deutlich werden (F. 78).

[2]) Behandelt man Sporen von Polysphondylium mit Eau de Javelle, so erfolgt eine starke Aufhellung des Inhalts, der gegen das Mittel weniger widerstandsfähig ist als die Membran. Ganz aufgelöst wird der Inhalt nicht. Nach einer gewissen Zeit werden im Innern der Spore zahlreiche Körnchen sichtbar, die bei hoher Einstellung lichtbrechend, bei tiefer dunkel sind; es sind keine Fetttröpfchen.

Die Sporen von Myxococcus ruber werden durch Chloralhydrat nicht wesentlich verändert. Die Sporen von Polysphondylium weisen nach Behandlung mit Chloralhydrat im Innern einen ovalen Körper von nicht ganz regelmäßiger Gestalt auf, der allseitig von der Membran gleichmäßig weit entfernt ist (F. 77).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Die erhaltenen Bilder sprechen gegen das Vorhandensein einer Exine und Intine. Bei den anormalen ovalen Sporen liegen die hier geraden spindelförmigen Körperchen mit ihrer Längsachse in der Längsachse der Sporen.

Setzt man den mit Methylenblau 1 + 100 gefärbten Sporen 1proz. Schwefelsäure zu, so verschwindet die Färbung zuerst aus der Hülle, die als solche vollständig unsichtbar wird und aus dem Cytoplasma, etwas später aus den „Kernen“. Eine Färbung der Hülle und der beiden Körperchen kann man auch mit Delafields Hämatoxylin erreichen. Zunächst fixiert man 10 Minuten mit Flemingscher Lösung, wäscht 2 Stunden mit Wasser und färbt 20 Stunden mit einer Mischung von Hämatoxylin und Wasser 1 : 1 oder man färbt kürzere Zeit und erwärmt leicht. Während man die Methylenblaufärbung durch einfaches Auswaschen mit Wasser wieder vollständig entfernen kann, wird bei der Hämatoxylinfärbung der Farbstoff fester gehalten, es ist ein längeres Einwirken verdünnter Salzsäure zum Entfernen nötig. Die Körperchen werden bei dieser Behandlung schneller unsichtbar, als die Hülle. Irgend ein Reservestoff wurde in den Sporen nicht nachgewiesen, Reaktionen auf Fett, Volutin und Glykogen fielen negativ aus.

b) Morphologie der Stäbchen von Polyangium fuscum und Chondromyces crocatus im Fruktifikationszustande.

Polyangium fuscum: Die Größenverhältnisse der Stäbchen von Polyangium fuscum in den Cysten betragen nach Baur (1905, p. 102) 3—3,5 × 0,8—1,5 μ. Die meisten Stäbchen sind gekrümmt. Sie sind in den Cysten in kein besonderes Substrat eingebettet, Schleim wurde in ihrer Umgebung durch kein Mittel nachgewiesen. Die Stäbchen liegen in den Cysten noch dichter aneinander als in den vegetativen Kolonien, sie haften fest zusammen, so daß sie nur schwer getrennt werden können.

Die Hülle der Cystenstäbchen ist der Hülle der vegetativen Stäbchen gegenüber nicht wesentlich verdickt, sie läßt sich sichtbar machen durch Färben mit Methylenblau 1 + 10, nachdem man vorher Jod-jodkalium einwirken ließ.

Eine Kontraktion der Cystenstäbchen von Polyangium fuscum durch Anwendung solcher Stoffe wie bei den vegetativen Stäbchen von Myxococcus ruber angegeben, findet auch statt, aber in erheblich geringerem Maße als bei letzteren. Die auf die vegetativen Stäbchen so energisch wirkende Kalilauge führt bei den Cystenstäbchen eine nur relativ geringe Kontraktion herbei. (F. 15.)

Über den Inhalt der Stäbchen sagt Thaxter (1897) bei Polyangium fuscum, aggregiere sich ein Teil des tiefer gefärbten Inhalts zu einem nucleusartigen Körper, der in seinem allgemeinen Aussehen dem der sporenbildenden Formen entspreche. Ich habe gefunden, daß keine wesentlichen Änderungen des Inhalts die Cystenstäbchen vor den vegetativen Stäbchen auszeichnet. Etwas distinkter sind wohl die beiden Körperchen, die sich mit gleichen Mitteln nachweisen lassen wie bei den vegetativen Stäbchen. (F. 26.) Von den Reaktionen auf Fett, Glykogen, Volutin fiel nur die letztere positiv aus. Nur in wenigen Stäbchen ist dieser Reservestoff in geringer Menge vorhanden.

Chondromyces crocatus: Die Stäbchen von Chondromyces crocatus zeigen in dem Stadium ihrer Entwicklung, in welchem sie kugelige Massen auf dem Substrate bilden, aus denen die Fruchtkörper hervorgehen, den vegetativen Stäbchen gegenüber eine gewisse Verkürzung und Verdickung. (F. 28 und 12.) Die Größenverhältnisse betragen in diesem Stadium 2,5 — 3,8 × 0,8—1,0 μ. Während der weiteren Entwicklung des Fruchtkörpers verändern sich die Stäbchen, die zu Cystenstäbchen werden, hinsichtlich ihrer Größe, Form und ihres Inhalts nicht bis zur Bildung der Loben, aus denen die Cysten werden. Nur in den Cysten treten Änderungen ein. Zerdrückt man fertige Cysten, so erhält man Massen, die zwar deutlich zeigen, daß sie aus Stäbchen bestehen, aber die Konturen der Stäbchen sind so unklar, daß eine genaue Messung nicht durchführbar ist. Man sieht aber wohl, daß ihre Dicke abgenommen hat. Quehl (1906, p. 14) schätzt die Länge auf 2—3 μ. Über den Nachweis der beiden Körperchen in den Stäbchen des Fruktifikationsstadiums, das der Cystenbildung vorausgeht, habe ich schon bei der speziellen Besprechung dieser Gebilde berichtet, hier sollen die übrigen Einschlüsse und die durch verschiedene Farbmittel zu erhaltenden Bilder berücksichtigt werden.

Färbt man mit Methylenblau 1 + 10, so wird in der Mitte eine breite Binde sichtbar, die ganz der bei den vegetativen Stäbchen von Myxococcus ruber und Polyangium fuscum beobachteten Binde entspricht. Thaxter (1897) berichtet, daß in den Cystenstäbchen von Chondromyces crocatus der körnige tiefer gefärbte Teil des Zellinhaltes sich zu einer mehr oder weniger bestimmt umgrenzten Masse ansammele und zwar zu einer Masse, die gewöhnlich länglich sei und eine zentrale oder häufiger seitliche Stellung einnehme. Die Abbildungen, die Thaxter zu dieser Beschreibung gibt, entsprechen ganz den Präparaten, die ich erhielt, wenn ich 10 Minuten mit Flemingscher Lösung fixierte und dann 2 Stunden gewässerte Stäbchen, die im Anfangsstadium der Fruktifikation standen, 20 Stunden mit Delafields Hämatoxylin färbte. (F. 27.) Färbt man die Stäbchen vorsichtig mit Methylenblau 1 + 100, so erhält man ganz ähnliche, aber weniger distinkt gefärbte Bilder, wie man sie nach der früher angegebenen Kernfärbemethode bekommt. (F. 28.) Neben den beiden Binden und Ballen, die viel schwächer gefärbt sind, werden noch andere Elemente mitgefärbt, vielleicht Plasmapartien, die durch die, hauptsächlich an den Enden liegenden Reservestoffe in die Mitte gedrängt werden. Interessant ist das Verhalten der Reservestoffe während der Fruktifikationsperiode. Was zunächst die Stäbchen im Anfangsstadium der Fruktifikation anbelangt, so fällt schon beim ungefärbten Präparat auf, daß die Enden stark lichtbrechend sind, was von Fettkugeln herrührt. Neben diesen Fettkugeln finden sich im, mit Methylenblau 1 + 100 gefärbten, Präparat tief gefärbte, bedeutend kleinere Kugeln, ebenfalls je 1 oder 2 an den Enden der Zellen, Volutanskugeln.

Nimmt man Stäbchenmaterial von der kugeligen Masse auf dem fertigen Cystophor, aus welcher sich später die Cysten entwickeln, so findet man auch in Bezug auf die Reservestoffe ganz dieselben Verhältnisse, relativ reichlich Fett und Volutin.

Die Cystenstäbchen enthalten nur noch Volutin, kein Fett.

c) Sporenbildung bei Myxococcus ruber.

Die Sporenbildung verläuft nach den Berichten von Thaxter (1897) und Baur (1905, p. 100) so, daß die Stäbchen sich solange verkürzen und verdicken, bis sie Kugelgestalt angenommen haben, dann eine dicke Hülle ausbilden. Man kann die verschiedenen Stadien der Sporenbildung leicht erhalten, wenn man Fruchtkörper, die im Beginn ihrer Bildung stehen, zur

Untersuchung benutzt. 90—100 Stunden nach der Sporenaussaat findet man in Kartoffelabkochung 5 + 100, die bei 30° gehalten wurde, derartige Stadien reichlich. Die Stäbchen, die zur Sporenbildung gelangen, sind stets relativ klein, sie pflegen das Minimalmaß meist nicht zu überschreiten.

Über den Inhalt der Stäbchen gehen die Berichte etwas auseinander: Thaxter (1897) sagt, daß der schwere körnige Teil ihres Inhalts dazu neige, sich in bestimmten Massen anzusammeln. Sogar ehe die Stäbchen Aufblähung gezeigt hätten, könne eine dieser Massen in der Nähe vom Ende der Zellen größer, als die übrigen erscheinen, die übrigen neigten aber dazu, sich zu verlieren, wenn die Verwandlung der Stäbchen fortschreite, die größere Masse würde dann immer deutlicher und klarer abgegrenzt und sie nähme mit Eosin oder Hämatoxylin eine dunkle Farbe an. Wenn die Spore eine rundere Form bekommen hätte, nähme diese tief gefärbte Masse eine zentrale Stellung ein und hätte das Aussehen eines bestimmten nucleusartigen Körpers. Nach der Darstellung Baurs (1905, p. 100) treten in den sich zur Sporulation anschickenden Stäbchen zwei lichtbrechende Körperchen auf, die sich in der Spore vereinigen. Baur bezeichnet diese Körperchen als Polkörperchen.

Was meine Untersuchungen über die Inhaltsverhältnisse anbelangt, so sei zunächst gesagt, daß ich keine Reservestoffe während des Sporulationsstadiums nachweisen konnte. Bei wenigen kontrahierten Stäbchen wurden an den Enden ganz winzige, lichtbrechende mit Methylenblau sich nicht färbende Körperchen gesehen, die aber so klein waren, daß nicht wahrgenommen werden konnte, ob mit Sudan Rotfärbung eintrat, es ist also zweifelhaft, ob es sich um Fettröpfchen handelte.

Es kam mir in erster Linie darauf an, zu erfahren, wie sich die bei den vegetativen Stäbchen besprochenen beiden Körperchen bei der Sporenbildung verhalten, ob sie vielleicht in Beziehung stehen zu den bei den Sporen gefundenen beiden spindelförmigen Körperchen. Ich benutzte Material, das ich 10 Minuten mit Flemingscher Lösung fixiert und 2 Stunden gewässert hatte. Bei der Färbung mit Methylenblau 1 + 100 zeigte sich eine auffallende Erscheinung. Wenn ich so lange gefärbt hatte, daß in den normal langen und schwach kontrahierten Stäbchen die beiden Körperchen gerade gut sichtbar wurden, waren die stark kontrahierten Stäbchen und die jungen Sporen so stark gefärbt, daß bei ihnen nichts zu erkennen war. Durch Auswaschen mit Wasser konnte bei ihnen der Farbstoffüberschuß leicht entfernt werden, so daß der Inhalt deutlich wurde, aus den normal langen und schwach kontrahierten Stäbchen war jetzt der Farbstoff gänzlich ausgewaschen. Die auf die beschriebene Weise erhaltenen Bilder (F. 29) lehren, daß in allen Stadien der Sporulation die beiden Körperchen vorhanden sind und daß die in den Stäbchen nachgewiesenen Körperchen identisch sind mit den in den Sporen gefundenen. Wie schon angegeben, haben die Körperchen in den vegetativen Stäbchen meist die Form kurzer, dicker gewöhnlich spindelförmiger Bänder, deren Längsachse entweder der Längsachse der Stäbchen parallel ist, oder mit ihr einen Winkel bildet. Beim Übergang der Stäbchen in Kugeln sind die Körperchen meist der Peripherie genähert und verdanken diesem Umstande die Form gebogener Spindeln. In jungen Sporen liegen sie an der Peripherie, in älteren sind sie dem Zentrum näher. Bei jungen Sporen ist noch nichts von der dicken Hülle zu sehen wie sie die älteren Sporen besitzen.

d) Sporenkeimung bei Myxococcus ruber.

Was die Keimung anbelangt, so finden sich verschiedene Ansichten vertreten. Thaxter (1897) hat zwei verschiedene Arten von Keimungen gesehen, eine, bei der die Spore nach und nach die Stäbchenform annahm, ohne, daß eine Trennung von der Sporenwand wahrnehmbar wurde, eine andere, bei der ein Herauskriechen des Stäbchens aus der Sporenhülle stattfand. Thaxter hält die erste Art der Keimung für anormal. Baur (1905 p. 97) hat nur die erste Art der Keimung beobachtet, ebenso Quehl, auch ich habe den zweiten Keimungsmodus vergebens zu bekommen versucht. Bringt man Sporen in Kartoffelabkochung 5 + 100 bei einer Temperatur von 30°, so kann man nach 5 Stunden alle Stadien der Sporenkeimung sehen. — Bei gleicher Behandlung und Färbung der Stäbchen im Keimungsstadium und im Sporulationsstadium erhält man Bilder, die sich genau gleichen, auch in Bezug auf die Inhaltsstoffe. Die Bemerkung Baurs, daß die Sporenbildung gerade der umgekehrte Vorgang wie die Keimung sei, stimmt völlig mit meinen Beobachtungen überein. Ob die von Baur nur bei der Sporulation und Sporenkeimung beobachteten, als Polkörperchen bezeichneten lichtbrechenden Flecke identisch sind mit den von mir beschriebenen, in allen Entwicklungsstadien nachgewiesenen beiden Körperchen oder vielleicht mit den erwähnten lichtbrechenden Pünktchen an den Enden einiger kontrahierter Stäbchen, läßt sich nicht entscheiden.

6. Fruchtkörper.

a) Die Fruktifikation.

Schon beim Wachstum der vegetativen Stäbchen in Flüssigkeit kann man die Beobachtung machen, daß sie in Formen wachsen, die denen der späteren Fruchtkörper sehr ähnlich sehen. Das gilt sowohl für Myxococcus ruber (kugelförmige Erhebungen) als auch für Polyangium fuscum (ballenförmige Aggregate). — Baur (1905, p. 114) hat sich mit der Frage von den Bedingungen zur Fruktifikation beschäftigt, er stellt Erwägungen darüber an, welche Faktoren die Fruktifikation von Myxococcus ruber veranlassen. Als einen solchen Faktor hat er langsames Austrocknen erkannt, er weist aber durch weitere Versuche nach, daß Austrocknen keineswegs der einzige Anreiz zur Fruktifikation ist. Baur meint, daß Mangel an Nahrung nicht der Reiz zur Fruchtkörperbildung sei, da er beobachtete, daß in Flüssigkeitskulturen Fruchtkörperbildung nach ungefähr derselben Zeit eintrat, wenn er das Substrat erneuerte und wenn er es nicht erneuerte. Dieses Verhalten scheint ja allerdings der Annahme zu widersprechen, daß Nahrungsmangel Reiz zur Fruktifikation ist. Man muß aber in Betracht ziehen, daß die Stäbchen äußerst dicht aneinander liegen und eine relativ dicke Schicht bilden. Fügt man frische Nährlösung zu, so kommt sie nur den oberen Stäbchen zugute, die die Nährstoffe, mit denen sie in Berührung kommen, zum größten Teil an sich reißen, sich infolgedessen kräftig vermehren, und dadurch die unteren Stäbchen nur noch mehr von der Nahrungszufuhr abschneiden, für diese tritt also durch frische Zufuhr von Nährstoffen keine Besserung ein, der Nahrungsmangel nimmt für sie mit der Verdickung der Stäbchenschicht zu bis er vielleicht als Reiz zur Fruktifikation wirkt. Thaxter (1892) und Baur (1905, p. 113) haben festgestellt, daß fruktifizierende Stäbchen, die durch Verkürzung und Verdickung charakterisiert sind, auf die vegetativen Stäbchen eine Anziehung ausüben und sie gewissermaßen anstecken, ebenfalls in die Fruktifikationsperiode einzutreten. Es brauchen demnach nur einzelne Stäbchen begonnen zu haben, zu fruktifizieren, also etwa die, welche am empfindlichsten durch Nahrungsmangel betroffen werden, so ist bald für die Gesamtheit der Stäbchen der Fruktifikationszustand eingetreten. — Will man alle Stäbchen mit frischem Nährmaterial versorgen, dann muß man sie umimpfen und, wenn man das immer frühzeitig genug wiederholt, so tritt, wie Baur gezeigt hat, niemals Fruchtkörperbildung auf.

Folgendes scheint mir dafür zu sprechen, daß Nahrungsmangel doch wohl Reiz zur Fruktifikation sein kann:

1. Das Ausbleiben der Fruktifikation auf Substraten mit reichlichem Nährstoffgehalt, das ich bei Myxococcus ruber, Polyangium fuscum, Chondromyces crocatus beobachtet habe. — (Selbstverständlich kann man das Nichtgebildetwerden der Fruchtkörper auf diesen Substraten auch auf andere Ursachen, z. B. Degeneration durch Überfütterung zurückführen).

2. Die reichliche und schnelle Fruktifikation, die ich bei Chondromyces crocatus beobachtete, wenn ich auf ganz dünne Mistschichten impfte, oder, wenn ich kleinere Mistmengen größeren entnahm, auf denen Chondromyces crocatus wuchs. Die Mistbröckchen waren, auch wenn sie reichlich feucht gehalten wurden, viel schneller und dichter mit Fruchtkörpern besetzt, als die größeren Mistmengen, von denen die Bröckchen abgehoben waren.

3. Quehl (1906, p. 25) beschreibt für Myxokokken das Auftreten von Fruchtkörpern auf Agar in Form von konzentrischen Ringen. Die inneren Ringe werden zuerst gebildet, dann folgen die äußeren. Das Auftreten solcher Ringe habe ich auch bei Myxococcus ruber und Chondromyces crocatus beobachtet wenn ich sehr dünne Mistschichten anwandte. Eine Erklärung für das successive Auftreten der Ringe scheint mir die zu sein, daß bei dem gleichmäßigen Wachstum in Kreisform eine gleichmäßige Erschöpfung der Nährstoffe im Substrat und damit ein gleichzeitiger Anreiz zur Fruchtkörperbildung erfolgt. Die Nährstoffe sind an den Stellen, wo der Organismus sein Wachstum begann, natürlich am schnellsten erschöpft, hier findet also der erste Anreiz zur Fruchtkörperbildung statt. Mit der gleichmäßigen Erschöpfung des Nährbodens werden neue Kreise von Fruchtkörpern gebildet.

4. Wie ja schon Baur angegeben hat, ist langsames Austrocknen ein Anreiz für die Fruktifikation. Ich meine, daß Trockenheit auch die Möglichkeit der Ausnutzung eines Substrates erschwert, es wird also durch sie Nahrungsmangel hervorgerufen.

Daß relative Trockenheit den Beginn der Fruktifikation beschleunigt, habe ich vielfach bestätigt gefunden bei Myxococcus ruber, Polyangium fuscum, Chondromyces crocatus. Es findet in kurzen weiten Reagenzröhrchen viels chneller Fruchtkörperbildung statt als in langen engen. — Auf seinen schwimmenden Kolonien auf flüssigen Substraten bildet Myxococcus ruber viel früher seine Fruchtkörper als auf dem Boden der Gefäße. Chondromyces crocatus bildet auf Kaninchenmistagar 10+100 mit 2 Proz. Agar in Röhren niemals seine Fruchtkörper auf dem Substrate selbst, immer nur an den Glaswänden und hier nur kümmerliche, dagegen bildet er leidlich normale auf Kaninchenmistagar 10 + 100 mit 10 Proz. Agar.

Außer durch Herbeiführen von Nahrungsmangel, der seinerseits vielleicht als Anreiz zur Fruktifikation betrachtet werden kann, scheint mir relative Trockenheit für das Zustandekommen der Fruchtkörper von Polyangium fuscum, namentlich von Chondromyces crocatus notwendig zu sein. Bei Myxococcus ruber werden ja Fruchtkörper reichlich in Flüssigkeit gebildet. Bei Polyangium fuscum kommt es zur Fruchtkörperbildung nur in dünnen Flüssigkeitsschichten wenn die hier gebildeten Ballen teilweise mit der Luft in Berührung stehen. Bei Chondromyces crocatus findet wohl auf schwimmender Haut, wie ich einmal beobachtet habe, niemals aber in flüssigem Substrate Fruchtkörperbildung statt, auch nicht auf zu stark befeuchtetem Substrat. In dampfgesättigter Luft werden ganz anormale Fruchtkörper gebildet.

Baur (1905, p. 111) hat die Frage aufgeworfen, welche Faktoren wohl die Orientierung der Fruchtkörper auf der Oberfläche des Substrates bewirken könnten und er meint, ein solcher Faktor wäre wohl der Umstand, daß unter den natürlichen Bedingungen auch schon die vegetativen Stäbchen außen auf dem Mist vorkämen, vielleicht wegen der Konkurrenz mit andern Organismen, die den Bedingungen im Innern des Substrates besser angepaßt seien. Diese Ansicht halte ich nicht für unrichtig, doch meine ich, daß umgekehrt auch die Myxobakterien, soweit ich sie untersucht habe, den Bedingungen an der Oberfläche häufig besser angepaßt sind als viele Bakterien, da ja an der Oberfläche die größte Trockenheit herrscht und die Myxobakterien zu ihrem Fortkommen mit trockenerem Substrate auskommen, als die meisten Bakterien, wie ich nachgewiesen habe. Für die Orientierung der Fruchtkörper scheint mir folgender Umstand keine unwichtige Rolle zu spielen: Wie erörtert, ist relative Trockenheit ein Anreiz zur Fruktifikation, fruktifizierende Stäbchen ziehen aber andere Stäbchen aus verhältnismäßig großer Entfernung an. — Baur (1905, p. 113) hat nachgewiesen, daß die Wirkung mindestens 100 μ weit reicht. Beide Momente zusammen bilden ebenfalls einen Grund für die Orientierung der Fruchtkörper an der Oberfläche der Substrate.

b) Morphologie und Entwicklung des Fruchtkörpers von Chondromyces crocatus.

Morphologie des normalen Fruchtkörpers.

Thaxter (1892, p. 389) gibt von dem normalen Fruchtkörper folgende Beschreibung: „Cystophor orangefarben, schlank, einfach oder 1—5mal nacheinander verzweigt, gefurcht, spiralförmig gedreht oder unregelmäßig gebogen, durchschnittliche Höhe 600 μ, selten 1 mm. Blaßstrohfarbene Cysten, zuerst spindelförmig, wenn sie reif sind nach unten zu kegelförmig, am Ende abgerundet, oft an der Basis zerrissen. Durchschnittliche Maße 28 × 12 μ. In verschiedener Zahl an den Enden der Cystophore, wo sie kugelförmige Köpfchen bilden von 70—90 μ im Durchmesser". — Dazu will ich noch bemerken, daß an den Stellen der Verzweigung bei den Cystophoren, die ja stets in der Weise erfolgt, daß sich die relative Hauptachse in 2 annähernd gleiche Zweige gabelt, eine eigenartige Erscheinung zu konstatieren ist. Bei durchscheinendem Licht und schwacher Vergrößerung sieht man, daß die Hauptachse kegelförmig zuläuft und, daß sich die beiden Zweige an die Seiten des Kegels ansetzen. — Ferner möchte ich noch eine Eigenart der Fruchtkörper von Chondromyces crocatus erwähnen, nämlich einen ganz charakteristischen, kräftigen, nicht unangenehmen Geruch, der sich mit der Bildung der ersten Fruchtkörper einstellt. Bei Polyangium fuscum und Myxococcus ruber habe ich niemals etwas derartiges wahrgenommen.

Anormale Fruchtkörper.

Auf die unter gewissen Umständen so mannigfaltige Ausbildung der Fruchtkörper hat schon Thaxter hingewiesen, er sagt, daß große Feuchtigkeit große Unregelmäßigkeit in Form und Zahl hervorbringe, sowohl der Cysten als auch der Cystophore, die unter diesen Umständen dicker seien, unregelmäßiger verzweigt und ohne spiralige oder längslaufende Streifen, die meistens für die schlanken Formen charakteristisch seien. Die Abbildungen, die Thaxter gibt, zeigen die großen Differenzen im Bau der Fruchtkörper, die teilweise so groß sind, daß man glauben könnte, es handle sich um Vertreter ganz verschiedener Spezies. Die in feuchter Luft gebildeten dicken Fruchtkörper sind, wie man unter dem Binokular erkennen kann, nicht rund, sondern bandförmig zusammengedrückt.

Besonders abweichend von den normalen Fruchtkörperformen sind solche mit Sekundärcysten, die, wie Thaxter (1892) beschreibt, als Ausnahmen von dem normalen Entwicklungsgang in alten Kulturen von Chondromyces crocatus vorkommen, wo die Cysten, die in situ gekeimt haben, am Ende des Cystophors oft direkt sekundäre Cysten hervorbringen, die von kurzen, schlanken, sekundären Cystophoren getragen werden. Ich habe besonders eigenartige Fruchtkörper dadurch entstehen sehen, daß die Stäbchen, die, wie Solms (1904, p. 39) angibt, gern bei der Cystophorbildung die, im Substrat zahlreich vorhandenen, Faserstränge als „Kletterbäume“ benutzen, an fertigen Fruchtkörpern hinaufkletterten, ein Vorgang, der zur Bildung verschiedenartiger Fruchtkörper führte, je nachdem der neue Fruchtkörper sich, mehr oder weniger horizontal orientiert, seitlich am alten Cystophor oder auf ein Cystenköpfchen ansetzte.— Legte ich Deckgläschen auf Mistplatten, auf denen Chondromyces crocatus reichlich wuchs, so entstanden auf diesen Fruchtkörper von ganz absonderlicher Gestalt. Wohl infolge des Mangels an Material zum Aufbau normaler Fruchtkörper wurden hier meist nur Cysten ausgebildet ohne Cystophor und zwar lagen diese, oft in Kreisform gruppiert, um eine flache Stäbchenmasse von strahligem Aussehen. Die Cysten hatten eine den normalen Cysten durchaus entsprechende Gestalt. Die bemerkenswertesten Bildungen, die ich unter den beschriebenen Umständen fand, waren Fruchtkörper, deren Cystophore ganz flach dem Glase auflagen; denkt man sich einen Cystophor der Länge nach gespalten und die eine Hälfte davon aufgelegt, so kann man sich ungefähr das Aussehen derartiger Gebilde vorstellen. Die Cysten waren hierbei ebenfalls kreisförmig angeordnet, sie saßen, im Umkreise einer schwach gelblichen, strahligen Masse am Ende des als liegenden Cystophor aufgefaßten Körpers mit der Basis auf, ihr Längsdurchmesser stand senkrecht auf der Glasfläche. — Auf Filtrierpapier, das auf eine Schicht von Kaninchenmist aufgelegt war, wuchsen zunächst normale Fruchtkörper bei einer Temperatur von 30°. Als darauf die Schale etwa 15—20 Tage bei Zimmertemperatur gehalten worden war, fanden sich Fruchtkörper, die denen von Polyangium fuscum ähnlich waren, nur keine äußere homogene Schicht hatten und eine gelbe Farbe besaßen. (F. 30). Die Cysten erreichten eine maximale Länge von 120 und eine Breite von 80 μ, Größenverhältnisse, die zu denen der normalen Cysten im schärfsten Gegensatz stehen. Die Größenverhältnisse der Stäbchen in diesen Cysten entsprachen denen des Anfangsstadiums der Fruchtkörper. Die Ausbildung der Cysten war eine mehr oder weniger vollkommene, es fanden sich Stäbchenballen, die nicht, andere, die nur teilweise von einer gelben Hülle bedeckt waren, es waren aber auch Cysten vorhanden mit einer regelmäßig ausgebildeten Umhüllung. In den Cysten kamen neben den Chondromyces crocatus-Stäbchen auch einzelne andere Bakterienstäbchen und wenige Pilzsporen vor. Derartige Einschlüsse habe ich sonst niemals in Cysten gefunden.

Struktur des Cystophors.

In Bezug auf die innere Morphologie verdient der Cystophor besonderes Interesse. Über die Struktur des Cystophors finden sich in der Literatur einige Angaben. Thaxter (1892) schreibt, daß der Cystophor aus einer Masse bestehe, die sich teilweise aus gelatinöser Grundsubstanz, teilweise aus Stäbchen zusammensetze, die man bald nach der Vollendung des Cystophors nicht mehr darin unterscheiden könne. Quehl (1906, p. 32), der zu seinen Untersuchungen Chondromyces apiculatus benutzt hat, hat Querschnitte des Cystophors untersucht. Aus dem Umstande, daß diese Schnitte sich im Gegensatz zu dem Inhalt der Cysten nur sehr schwach färbten, schloß Quehl, daß der Inhalt des Stieles nicht aus Stäbchen, sondern aus Schleim bestehe, den die Stäbchen, wie er meint, während ihres ganzen Lebens produzieren.

In jungen Cystophoren, denen noch die kugelige Stäbchenmasse aufsitzt, aus der sich später die Cysten entwickeln, kann man unter der etwas durchsichtigen Oberfläche zahlreiche Streifen wahrnehmen, deren Länge sich nicht bestimmen läßt, deren Breite aber genau der der Stäbchen aus der Köpfchenmasse entspricht. Dieser Umstand machte mir die Ansicht Quehls der Cystophor bestehe lediglich aus Schleim, wenigstens für Chondromyces crocatus sehr unwahrscheinlich und ich stellte daher Versuche an, über den Inhalt des Cystophors Aufschluß zu gewinnen. Zunächst machte ich Versuche mit verschiedenen Färbemitteln, indem ich den ganzen oder den zerdrückten Cystophor färbte. Diese Färbeversuche bestätigten die Angabe Quehls, nämlich, daß die Substanz der Cysten sich leichter färben läßt als die des Cystophors. Färbt man z. B. einen ganzen Fruchtkörper von Chondromyces crocatus mit Methylenblau 1+10, so tritt eine intensivere Färbung der Cysten als des Cystophors auf. Durch abwechselndes Auswaschen mit Wasser und 95-proz. Alkohol läßt sich die Farbe aus dem Cystophor und aus der Hülle der Cyste wieder vollständig entfernen, so daß deren gelbe Farbe deutlich hervortritt, der Cysteninhalt bleibt aber gefärbt, auch wenn man sehr lange auswäscht.

Nachdem ich mich davon überzeugt hatte, daß man durch einfaches Färben keinen Aufschluß über die Zusammensetzung des Cystophors erhalten kann, stellte ich zahlreiche Versuche an, eine Lockerung der Struktur des Cystophors herbeizuführen, ohne ihn vollständig aufzulösen oder in strukturlose Massen zu verwandeln, wie das z. B. durch das Schultzesche Mazerationsverfahren geschieht. Nach vielen Mißerfolgen fand ich schließlich eine Methode, die geeignet war. Diese Methode besteht darin, daß ich unter steter mikroskopischer Beobachtung des zu mazerierenden Materials zunächst Eau de Javelle, dann 95-proz. Alkohol einwirken lasse und schließlich mit Methylenblau 1 + 100 färbe. Ich gebe die genauere Beschreibung dieser Mazerationsmethode zugleich mit einer Schilderung der Vorgänge, die am Cystophor während der einzelnen Phasen des Verfahrens bemerkbar sind. Läßt man Eau de Javelle zu einem unter Deckglas in Wasser liegenden fertig ausgebildeten Cystophor, der nicht ausgetrocknet sein darf, zutreten, so bemerkt man ein Verbleichen der gelben Färbung und ein Aufquellen des Cystophors. Hierbei treten, namentlich, nachdem die Eau de Javelle eine gewisse Zeit eingewirkt hat, dichte Ströme stäbchenartiger Elemente aus dem Ende und aus etwa zerdrückten Seitenpartien aus. Läßt man die Eau de Javelle jetzt noch länger einwirken, so bleibt bald von dem Cystophor nur noch eine strukturlose Masse oder nichts übrig. Der Auflösung und Aufquellung des Cystophors wird durch Auswaschen mit 95-proz. Alkohol Einhalt getan, der Cystophor schrumpft nach dem Zusatz des Alkohols ganz zusammen. Setzt man jetzt Methylenblau 1 + 100 zu, so tritt sofort wieder eine sehr starke Aufquellung und eine langsame Färbung der den Cystophor aufbauenden Elemente ein. Meine Untersuchungen haben gelehrt, daß der Cystophor vollständig aus dicht nebeneinandergelagerten Stäbchen aufgebaut ist, daß Zwischensubstanz nicht, oder nur in geringer Menge vorhanden sein kann.

Je nach der Einwirkungsdauer der Eau de Javelle bekommt man Bilder, die mehr oder weniger die ursprüngliche Struktur des Cystophors klarlegen. Läßt man die Eau de Javelle lange einwirken, so treten, wie schon erwähnt, eine große Menge von Stäbchen aus, wie man bei schwacher Vergrößerung deutlich sehen kann. Der Zusammenhang des ganzen Gebildes wird natürlich dadurch stark gelockert, und das Bild, das man nach dem Färben erhält, zeigt eine Stäbchenmasse, deren ursprünglichen Zusammenhang man kaum mehr erkennen kann. Natürlich kann unter diesen Umständen der Farbstoff am leichtesten eindringen und man erhält die schönsten Färbungen. Den besten Einblick in die Strukturverhältnisse erhält man durch eine mäßig lange Einwirkungsdauer der Eau de Javelle auf eben fertig gebildete Cystophore. Eine genaue Zeit der Einwirkungsdauer der Eau de Javelle kann man nicht angeben, da wegen der großen Verschiedenheiten in der Dichtigkeit der Struktur, — lange dünne Cystophore haben eine viel festere und dichtere Struktur als kurze dicke — das Verhalten der einzelnen Cystophore der Eau de Javelle gegenüber sehr wechselnd ist. In günstigen Fällen werden die Stäbchen so weit gelockert, daß sie den Farbstoff gut annehmen, aber nicht gänzlich ihre ursprüngliche Lagerung verlieren, dann sieht man zellfädenähnliche Stäbchenreihen (F. 31) mäßig weit von einander liegen, meist sind zwei oder mehrere dieser Fäden umeinandergedreht, alle liegen so, daß ihre Längsachse mit der des Cystophors gänzlich oder nahezu übereinstimmt. Bei kurzer Einwirkung der Eau de Javelle auf zerdrückte junge Cystophore erhält man unter günstigen Umständen Bilder, die zwar nur ganz schwach gefärbt sind, die aber zeigen, daß der ganze Cystophor aus einer dichtgeschlossenen Stäbchenmasse besteht, Stäbchenreihe liegt an Stäbchenreihe. Hierbei kann man wohl noch außer der charakteristischen Färbung des Inhalts (Binden) die Breite der Stäbchen erkennen, nicht aber ihre Länge, was ja leicht erklärlich ist, da die Stäbchen mit den Enden am dichtesten zusammenhaften.

Aus meinen Untersuchungen geht hervor, daß der Cystophor aus Stäbchen besteht, die offenbar durch eine ganz geringe Menge einer Kittsubstanz zusammengehalten werden. Diese Substanz quillt zunächst durch die Behandlung mit der Eau de Javelle und wird dann gänzlich aufgelöst. Bei den Bildern, die man nach langer Einwirkung der Eau de Javelle erhält, ist anscheinend diese Substanz zum größten Teil gelöst. Schon die Stäbchen der vegetativen Kolonien haften relativ fest mit ihrer Oberfläche aneinander, wesentliche Unterschiede scheinen mir bei dem Cystophor nicht vorhanden zu sein, nur, daß durch Wasserabgabe der Verband so innig geworden ist, daß alles bei der Untersuchung ohne vorherige Anwendung geeigneter Lösungsmittel als homogene Masse erscheint. Schleim habe ich bei Stäbchen, die von einem mazerierten Cystophor stammten, nicht nachweisen können. Interessant ist die Frage, welche Veränderung die Stäbchen, namentlich hinsichtlich ihres Inhalts, bei der Cystophorbildung durchgemacht haben

Die Stäbchen des mazerierten Cystophors zeigen nach der Färbung eine ähnliche Erscheinung wie die lebenden Stäbchen, eine Binde in der Mitte. (F. 31.) Wenn man Cystophore, die an ihrem Ende noch eine nicht differenzierte Stäbchenmasse tragen, in der angegebenen Weise behandelt, so zeigt der Vergleich zwischen den Stäbchen aus der Köpfchenmasse und denen aus dem Cystophor, daß kein wesentlicher Unterschied besteht, nur sind die Stäbchen des Cystophors sehr wenig kleiner. (F. 31 und 32.) Beide Arten von Stäbchen weisen nach der Behandlung eine erhebliche Kontraktion auf (daß die Stäbchen im jungen Cystophor vorher größer waren, das zeigt die Messung der Dicke der vorher erwähnten Streifen, die der Dicke der Stäbchen aus der Köpfchenmasse entspricht). Beide Stäbchenarten weisen nach der Behandlung dieselben Inhaltsstoffe auf, Binden in der Mitte und Fettropfen (F. 32) an den Enden. Der Reservestoff ist vielleicht dafür verantwortlich zu machen, daß die Kontraktion der Stäbchen an den Enden schwächer ist als in der Mitte. Bei den vorher .erwähnten Stäbchensträngen kann man, wenn zufällig einzelne seitlich von der Hauptmasse zu liegen kommen, bei scharfem Zusehen erkennen, daß die Stäbchen an den Enden durch eine äußerst feine fädige Masse verbunden sind (Kittsubstanz). (F. 31).

Wenn man alte vertrocknete Cystophore mazeriert und färbt, so kann man nichts mehr von Stäbchen in ihnen nachweisen, aber man sieht Reihen von Fettkugeln in den strukturlosen Massen liegen, die die Lagerung der Stäbchen andeuten, letztere sind durch den vollständigen Wasserverlust anscheinend so innig verbunden, daß eine Trennung nicht mehr gelingt.

Erwähnenswert ist, daß nach der Behandlung mit Eau de Javelle in und auf dem Cystophor kleine stark lichtbrechende eckige Körperchen auftraten, die sich weder in Eisessig, noch in konzentrierter Schwefelsäure, noch in konzentrierter Salzsäure lösten. Die Natur dieser Körperchen wurde nicht festgestellt. Eine Tatsache auf die Solms (1904. p. 39) schon hingewiesen hat, konnte ich bei der Untersuchung der Cystophore häufig konstatieren, nämlich, daß fremde Elemente mit zum Aufbau verwandt wurden. Es finden sich Pilzhyphen, auch Pilzsporen mitten im Cystophor, besonders oft die Fäden eines Organismus, den ich als ein Chlamydobacterium (F. 33) anspreche und von dem sich in derselben Weise Reinkulturen gewinnen ließen wie .von den Myxobakterien. Der Organismus wuchs in Reinkultur nicht auf Dextrose Agar, Agar ohne Dextrose, ⅓ Dextrose-Agar, dagegen gut auf Kaninchenmistagar 10 + 100.

Beim Betrachten fertiger Cystophore fällt die Streifung auf, die sie besitzen. Diese Streifung hat verschiedene Erklärungen gefunden. Von Zederbauer (1903) der die Streifen für Pilzhyphen hielt, wurden sie als Beweis benutzt, daß es sich bei den Myxobakterien nicht um selbständig existierende Organismen, sondern um eine Symbiose zwischen Pilzen und Bakterien handle, eine Ansicht, die von Thaxter, Solms, Baur und Quehl schon zurückgewiesen ist. Solms (1904. p. 39) meint, daß die Streifung durch Längsfalten und in der Schleimmasse zurückgebliebene Stäbchen, Pilzhyphen usw. zustande komme, Quehl führt sie auf Längsfaltung einer Membran des Cystophors zurück. — Es ist richtig, daß die Oberfläche des Cystophors nicht glatt ist, es kommen schwache Erhebungen und Vertiefungen vor, diese Falten sind aber viel gröber als die feinen Streifen. Es ist mir gelungen, solche Streifen durch Zerdrücken des Cystophors zu isolieren, nachdem das Material 24 Stunden in Osmiumsäure gelegen hatte. Die Breite solcher Streifen betrug etwa 0,3 μ (F. 34). Abgesehen davon, daß man bei Falten viel größere

Breiten erwarten muß, spricht auch die ziemlich gleichmäßige Breite gegen Falten. Ich hielt zuerst die Streifen für stark geschrumpfte Stäbchen, bis ich ihre wahre Natur erkannte. Wie schon erwähnt bildet Chondromyces crocatus auf Glasplatten unter den angegebenen Bedingungen gelegentlich Cystophore, die dem Glase in dünner Schicht flach aufliegen. Auch die charakteristische gelbe Färbung des Cystophors tritt hier stellenweise auf. An solchen gelben Stellen fand ich Stäbchen, die sich von den andern dadurch unterschieden, daß sie bei hoher Einstellung dunkel bei tiefer hell wurden, es handelte sich also um hohle Stäbchen. Diese Stäbchen übertrafen die übrigen nicht unerheblich an Größe. (F. 35). Zwischen den Hohlstäbchen lagen schwach gelbliche Streifen. An andern Stellen des Präparats waren fast nur noch die hier stärker gefärbten gelben Streifen zu sehen (F. 36), von den Stäbchen sah man nur noch bei besonders günstiger Einstellung etwas, sie machten den Eindruck von Lücken in der gelben Substanz. Die Länge der Streifen entsprach meist der Länge der Stäbchen, konnte auch länger sein, wie sich aus der Art ihrer Entstehung von selbst ergibt. Daß es sich hier um dieselben Gebilde handelte, die dem Cystophor sein charakteristisches gestricheltes Aussehen geben, darüber ließ das Präparat keinen Zweifel. Offenbar rührt der Umstand, daß die Stäbchen hohl sind davon her, daß sie bei der Bildung der, wahrscheinlich widerstandsfähigeren, Zwischensubstanz den größten Teil ihres Inhalts verbrauchen. Daß die äußere Schicht des Cystophors in der Tat eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Inneren zeigt, das ergibt sich z. B. bei längerer Behandlung des Cystophors mit Eau de Javelle, wobei der vorher erwähnte Stäbchenstrom nur aus den Enden oder aus verletzten Seitenpartien des Cystophors austritt, während sich von unverletzten Stellen nichts ablöst. — Es besteht also der Cystophor aus einem Kern so dicht aneinanderhaftender Stäbchen, daß er als homogene Masse erscheint und einem Mantel aus Stäbchen, deren Inhalt bei der Bildung einer Zwischensubstanz größtenteils verbraucht ist.

Entwicklung des Cystophors.

Nach der Ansicht Thaxters (1892) entsteht der Cystophor in der Weise, daß sich die papillenartige Stäbchenmasse, die zu Beginn der Fruktifikation der Oberfläche der Kolonie entspringt an der Basis kontrahiert. Hier an der Basis wird von den Stäbchen eine Masse zurückgelassen, die äußerlich durch die Berührung mit der Luft erhärtet. Der entstandene Ring erhärteter Substanz wird durch die von den Stäbchen darüber ausgeschiedene Masse zu einem Tubus verlängert, der sich während seiner Verlängerung am Grunde kontrahiert. Durch den Tubus wandern Stäbchen von unten nach oben. Quehl stellt die Bildung des Cystophors folgendermaßen dar: „Auf allen Stadien der Stielbildung bietet sich dasselbe Bild, wie Fig. 2b, in dem immer die Membran seitlich an der Stäbchenmasse sich ausbildet, dann nach unten zu stärker wird und sich mit zunehmender Einfaltung in den Stiel fortsetzt. Man wird daher mit Sicherheit annehmen dürfen, daß die Erhebung der Stäbchenmasse und damit die Ausbildung des Cystophors so zustande kommt, daß die austrocknende Membran auf der Unterseite der Stäbchenmasse sich zusammenzieht und dadurch die Masse nach oben drängt. Während sie sich an der Seite immer neu bildet, wird sie unten zum Aufbau des Stieles verwandt.“

Die Hyphothesen Thaxters und Quehls treffen für die Cystophorbildung des Chondromyces crocatus nicht zu, das zeigt schon die Morpho-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

logie des Cystophors von Chondromyces crocatus, man muß aber berücksichtigen, daß Thaxter seine Studien hauptsächlich an Chondromyces aurantiacus und Quehl dieseinigen an Chondromyces apiculatus gemacht hat. Bei Chondromyces crocatus habe ich niemals seitlich an papillösen der Masse, die dem Substrat oder dem jungen Cystophor aufsaß, eine Membran wahrnehmen können, auch konnte ich eine solche durch kein Färbmittel nachweisen. Die Stäbchen der kugeligen Masse nehmen an der Peripherie eine ziemlich regelmäßige Lage ein, sie liegen mit ihrer Längsachse fast immer parallel der Oberfläche der Kugel, aber gelegentlich ragen sie auch wie Stacheln aus der Masse hervor, sowohl oben als auch unten und gerade dieses Verhalten zeigt deutlich, daß keine Membran vorhanden ist. Nach der Darstellung Quehls geht die Fruchtkörperbildung in der Weise vor sich, daß die gesamte Masse, die den Fruchtkörper bildet, zunächst als Kugel zusammentritt und, daß ausschließlich diese zum Bau verwandt wird. Thaxter meint, daß durch den tubusartigen Cystophor noch Stäbchen von untenher eintreten und zu den Cysten wandern. Er kommt zu dieser Ansicht, weil er in dem Cystophor von Chondromyces aurantiacus eine Säule von Stäbchen gesehen hat, daß diese Stäbchen sich nach aufwärts bewegt haben, wird er wohl nicht beobachtet haben. Ich habe, um mir über die in Frage stehenden Verhältnisse Klarheit zu verschaffen, mit dem Zeichenapparat die verschiedenen Entwicklungsstadien eines Fruchtkörpers, der sich in horizontaler Lage entwickelte, gezeichnet und gleichzeitig die Zeit festgelegt, die der Fruchtkörper zu seiner Entwicklung vom Stadium der stiellosen papillenförmigen Masse bis zur vollständigen Ausbildung braucht. Die Temperatur betrug 30°. 3 Stunden nach Beobachtung der stiellosen Kugel (F. 37a), war schon der Cystophor fertig gebildet (b), nach 3 weiteren Stunden waren die Cysten da (c), allerdings noch gänzlich farblos. Im Verlaufe einer weiteren Stunde hatte sich die gelbe Färbung eingestellt (d), auch hatte sich ein Zweig während dieser Zeit, möglicherweise infolge ungleichmäßiger Eintrocknung, mehr nach aufwärts gerichtet. Die Größenverhältnisse der verschiedenen Stadien machen es sehr unwahrscheinlich, daß nach Anlage der Kugelmasse noch weitere Elemente etwa durch den hohlen Cystophor hinzutreten.

Um Anhaltspunkte für die Frage nach der Entwicklung des Cystophors zu gewinnen habe ich versucht, von Cystophoren mit noch undifferenzierter Stäbchenmasse letztere abzustreifen oder abzuheben, etwa mit einem feinen Pinsel. Das gelingt aber nicht, da die Masse verhältnismäßig zu zäh, der Cystophor zu zart ist. Zerdrückt man die Stäbchenkugel mit dem Deckglas, so sieht man, namentlich nach Färbung mit Methylenblau 1 + 100 Stäbchenreihen fächerförmig vom Ende des Cystophors etwa bis zu einem Drittel des Durchmessers in die Masse eintreten. Man darf wohl annehmen, daß diese Stäbchenreihen die Fortsetzung der im fertigen Cystophor nachgewiesenen sind. Die fächerförmige Ausbreitung erklärt sich durch das Zerdrücken der Masse, wodurch der in die Köpfchenmasse hineinragende jüngste Teil des Cystophors auseinandergewichen ist.

Auf Grund meiner Untersuchungen darf ich wohl annehmen, daß die Bildung des Cystophors folgendermaßen verläuft: In der Mitte der noch stiellosen papillösen Masse bilden Stäbchen zellfädenähnliche Reihen, die sich dicht aneinanderlegen, sich vielfach zusammendrehen. An dem durch Vereinigung der einzelnen Stränge gebildeten Bündel bewegen sich die übrigen Stäbchen nach aufwärts, wobei die mittleren die Stäbchenreihen verlängern. Die Gesamtheit der Stränge bleibt unterhalb der Masse als Cystophor zurück.

Die Außenstäbchen des Strangbündels scheiden zwischen sich eine gelbe Masse aus, wobei sie hohl werden. Das häufige gewundene Aussehen des Cystophors rührt von der Drehung der Stränge umeinander her. Thaxter (1892) spricht die Ansicht aus, daß durch die Torsion eine erhöhte Widerstandsfähigkeit des Cystophors erreicht werde, die Torsion einer gelatinösen Masse würde kaum eine Aufbesserung der Festigkeit bewirken, das ist aber der Fall bei der Torsion von Strängen.

Die Cysten von Chondromyces crocatus.

Bei den Cysten habe ich mein Augenmerk namentlich auf ihre Hülle gerichtet. Alte Cysten haben eine längsgefaltete Oberfläche. Die gelbe Hülle wird besonders in Chloralhydrat deutlich, noch besser tritt sie hervor, wenn man mit Methylenblau 1 + 10 färbt und längere Zeit mit Wasser auswäscht. Der Inhalt bleibt dann gefärbt und die Hülle hebt sich von ihm durch ihre gelbe Färbung ab. Die Dicke der Hülle, die man nach dem Zerdrücken der Cysten jetzt am besten messen kann, beträgt 0,2—0,3 μ. Schon dieser Umstand macht es unwahrscheinlich, daß Stäbchen an ihrer Bildung beteiligt sind, etwa hohle Stäbchen wie beim Cystophor; es wurden auch keine gefunden. Möglicherweise wird die Hülle von der obersten Schicht der Stäbchen der Cystenanlage gebildet. Es ist mir nicht gelungen, hierüber Aufschluß zu erlangen. Ich habe verschiedene Versuche gemacht, die Hülle von ihrem Inhalte abzusprengen. Läßt man zu den in Wasser liegenden Cysten Alkohol oder konzentrierte Sälzlösungen zutreten, so schrumpfen sie zusammen, auf Zusatz von Wasser quellen sie wieder auf. Die Hülle macht Schrumpfungen und Quellungen mit, ohne sich abzulösen. Interessant ist das Verhalten der Cysten bei der Mazeration, die für den Cystophor beschrieben wurde, im Gegensatz zu diesem zeigen sie keine Aufquellung; ihre Hülle wird schon durch kurze Einwirkung der Eau de Javelle zerstört, und es bleibt eine kugelförmige Stäbchenmasse zurück, deren Färbbarkeit durch die Behandlung zunimmt.

Die Cyste wird als ovale farblose, hüllenlose Stäbchenmasse angelegt, in der die einzelnen Komponenten deutlich sichtbar sind. Das beobachtete nächste Stadium zeigt eine, fast homogen erscheinende, von einer farblosen, durch Methylenblau färbbaren Hülle, umgebene Masse. Später erst tritt die Gelbfärbung der Hülle ein. Die Bildung der Cysten aus der Stäbchenmasse am Ende des Cystophors pflegt nicht gleichzeitig zu erfolgen, in den beobachteten Fällen waren unten an dem Köpfchen schon Cysten angelegt, während die obere Masse noch undifferenziert war.

Mikrochemisches Verhalten des Fruchtkörpers.

Reaktionen auf Zellulose und Chitin fielen bei dem Fruchtkörper von Chondromyces crocatus negativ aus. Interessant ist die große Widerstandsfähigkeit, die der Fruchtkörper zum Teil sehr energischen Reagentien entgegensetzt.

Wasser: Durch kurzes Kochen (5 Minuten) wird nichts geändert.

Salzsäure (30 Proz.): Der Cystophor quillt etwas auf. Nach dreistündiger Einwirkung: Cysten stark gequollen. Nach dem Neutralisieren durch Ammoniak quillt der Cystophor sehr stark. Färbt man jetzt mit Mythelenblau 1 + 100, so kann man an einzelnen Stellen, allerdings nicht gut, die Zusammensetzung aus Stäbchen erkennen. Durch Kochen mit Salzsäure wird der Fruchtkörper sofort völlig vernichtet.

Schwefelsäure (5 Proz.): Auch nach mehreren Stunden keine Einwirkung.

Schwefelsäure (konz.): Die Färbung wird sofort gelbbraun. Nach drei Stunden ist die Färbung beim Cystophor noch dieselbe, die Cysten sind braun. Es ist keine Zerstörung eingetreten, auch die Hüllen der Cysten sind erhalten. Stäbchen in ihnen deutlich zu sehen. Nach dem Neutralisieren durch Ammoniak starke Aufquellung der Cysten und des Cystophors.

Salpetersäure (konz.): Es tritt sofort keine Änderung ein. Nach 10 Stunden: Fruchtkörper fast unverändert, die Färbung ist ganz wenig schwächer geworden.

Kalilauge (25 Proz.): Sofort grauschwarze Färbung. Nach 3 Stunden keine weitere Änderung.

Chromsäure: Sofort völlige Auflösung der Cystenhülle, Cysteninhalt bleibt länger erhalten. Auch der Cystophor wird angegriffen, namentlich die Mantelschicht. Nach dem Auswaschen mit Wasser zeigt es sich, daß der Farbstoff völlig vernichtet ist.

Eisessig: Bewirkt auch nach längerer Zeit keine Änderung.

Ammoniaklösung: Verändert auch nach längerer Einwirkung nichts.

Jodjodkalium: Färbt den Fruchtkörper braun.

Chlorzinkjod: Färbung braungelb. Kupferoxydammoniak: grünlich gelbe Färbung, sonst keine Veränderung.

Phloroglucin: bräunlich-gelbe Färbung.

Sudan: Keine Änderung der Färbung[1]).

c) Fruchtkörper von Polyangium fuscum.

Thaxter (1897) beschreibt die Fruchtkörper: „Die zuerst orange-rote Farbe wird kastanienbraun. Die Cysten werden gebildet durch Trennung einer mehr oder weniger zusammengeballten Stäbchenmasse, sie sind beinahe rund bis langoval oder unregelmäßig länglich, im reifen Zustande umgeben von einer gelatinösen Grundsubstanz, sie liegen in Haufen zusammen oder verstreut auf dem Substrate. Jede Cyste ist von einer papierartigen, dünnen, trennbaren kastanienbraunen Schutzdecke umgeben, die im trockenen Zustande dunkel trübrot ist. Größenverhältnisse der Cysten 50 — 150 × 50 — 70 μ. —“

Was die gelatinöse Grundsubstanz anbelangt, die äußere Umhüllung der Cysten, so habe ich gefunden, daß sie als einheitliche Masse selten die einzelnen Cysten umschließt, vielmehr meistens mehrere, etwa 2—7, zu Ballen vereinigt. Größere Cystenhäufchen setzen sich aus mehreren solchen Ballen zusammen, die Grenzlinie der einzelnen Ballen ist deutlich zu erkennen.

Thaxter und Quehl (letzterer gibt auch eine Beschreibung der Spezies) erwähnen nichts von Fruchtkörpern, die in ihrer Gestalt von den beschriebenen Formen (F. 38a) abweichen und doch kommen solche häufig vor. Oft trifft man Fruchtkörper von bohnenförmiger Gestalt (F. 38b). Eine Scheidewand oder zwei Scheidewände, die die Cysten ganz oder teilweise durchsetzen, sind nichts seltenes (F. 38c). Besonders auffällig sind Cysten, in denen zweite Cysten eingeschachtelt liegen (F. 38d). Die Sekundärcysten pflegen dunkler gefärbt zu sein, was man wohl auf eine dichtere Struktur zurückführen darf. Die Maße für ein mittelgroßes derartiges Gebilde betragen

---

[1]) Der Stiel von Polysphondylium verhält sich, entsprechend seinem Gehalte an Zellulose, wesentlich anders. Er wird durch Eau de Javelle während mehrerer Minuten nicht sichtbar beeinflußt. Konzentrierte Schwefelsäure verwandelt ihn sofort in einen strukturlosen Detritus.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

für die primäre Cyste 60 × 140 μ, für die sekundäre 50 × 80 μ. Gelegentlich sah ich neben den besprochenen großen Cysten ganz kleine, meist kugelrunde auftreten, die kleinsten dieser Gebilde hatten etwa einen Durchmesser von 4, die größten einen solchen von 10 μ (F. 38e). Übergänge von den großen normalen Cysten zu diesen kleinen wurden niemals beobachtet. Ob diese Gebilde wirklich Cysten waren, also entwicklungsfähige Stäbchen enthielten und keimfähig waren, das habe ich nicht festgestellt, wahrscheinlich bestanden sie nur aus der Substanz der braunen Membran.

Was die äußere Umgebung der Cyste, die gelatinöse Substanz anbelangt, so hat sie ein hellbraunes Aussehen. In ihr liegen zahlreiche Stäbchen eingebettet, auffallend dicke, lange, dünne, alle von anormaler Form und vielfach mit reichlichem Fett- und Volutingehalt. Neben diesen Stäbchen bemerkt man häufig dunkelbraune Massen, die den Strukturcharakter der inneren Cystenhülle tragen.

Was die eigentliche Cystenhaut anbelangt, so finde ich in der Literatur nichts darüber angegeben. Es kann die Färbung auch bei ausgereiften Cysten sehr wechselnd sein, hellbraun bis dunkelbraun; wahrscheinlich eine Folge von Verschiedenheiten in der Dichtigkeit der Struktur. — Ich habe die Dicke der Hülle messen wollen und fertigte zu diesem Zwecke Schnitte an, wobei ich in Gummischleim einbettete und mit dem Rasiermesser schnitt (F. 39). Es zeigte sich, daß die Hülle recht unregelmäßig in ihrer Ausbildung ist, stellenweise erschien sie sehr dünn, ca 0,3 μ. — Der ganze Charakter der Hülle ähnelt dem des Cystophors von Chondromyces crocatus, namentlich in Bezug auf die Strichelung. Es fragte sich also, ob auch vielleicht hier solche Hohlstäbchen zu finden sind, die man als Bildner der Streifen aufzufassen hat. In der Tat findet man bei der Hülle von Polyangium fuscum solche Hohlstäbchen leichter als beim Cystophor von Chondromyces crocatus. Häufig erkennt man schon die hohlen Stäbchen in der Membran der zerdrückten Cyste ohne jedes Reagenz, sie werden aber deutlicher und sind in allen Fällen leichter nachweisbar, wenn man Eau de Javelle zusetzt. Die Eau de Javelle wirkt aber hier keineswegs so intensiv wie auf den Cystophor von Chondromyces crocatus, es findet nicht die geringste Aufquellung statt und man muß längere Zeit warten bis die Aufhellung der Hülle so weit fortgeschritten ist, daß man die Hohlstäbchen erkennen kann. Schneller kommt man zum Ziele, wenn man zu der Eau de Javelle unter dem Deckglase seitlich konzentrierte Salpetersäure zusetzt, wobei Gasblasen von unterchloriger Säure entstehen. Man muß nach dieser Behandlung mit Wasser nachwaschen, da nach einiger Zeit die Hülle total vernichtet wird, sodaß eine farblose Stäbchenkugel zurückbleibt, die äußerst widerstandsfähig ist. Auch Eau de Javelle löst die Membran vollständig, doch sehr langsam. Chromsäure löst die Hülle schneller, sie greift die Innenmasse nicht oder nur sehr langsam an. Durch Schulzes Mazerationsgemisch wird die Hülle in kürzester Zeit vernichtet, hierdurch auch bei längerer Einwirkung die Innenmasse.

Die Hohlstäbchen die nach der Eau de Javelle-Salpetersäure Behandlung deutlich werden, erweisen sich als solche durch ihr Verhalten, bei hoher Einstellung dunkel, bei tiefer hell zu erscheinen (F. 40). Die Hülle zeigt sich nicht überall gleichmäßig in ihrer Beschaffenheit, dort, wo die hohlen Stäbchen am deutlichsten hervortreten, also am weitesten von einander entfernt sind, tritt die eigenartige Strichelung zurück, wo die Streifen dichter liegen erkennt man die Hohlstäbchen dazwischen kaum oder nicht mehr. Die Zusammensetzung der Hülle aus Stäbchen und der von diesen ausgeschiedenen Zwischensubstanz erklärt ihre ungleichmäßige Beschaffenheit, die beim Querschnitt hervortritt. Die Querschnitte lassen erkennen, daß die Lagerung der Stäbchen in den Cysten nicht ganz regellos ist, sondern eine gewisse Gleichmäßigkeit zeigt. Was die äußere Umhüllung anbelangt, so wird sie sehr schnell von der Eau de Javelle und den übrigen angeführten Reagentien aufgelöst. Die Cysten mit den Sekundärcysten zeigen bei der Eau de Javelle-Salpetersäure-Behandlung, daß Stäbchenmassen, die der Einwirkung wiederstehen, hauptsächlich in der Sekundärcyste vorhanden sind, daß aber solche auch in dem Raume zwischen den Wandungen der primären und sekundären Cyste liegen.

Ich habe auch mit den Fruchtkörpern von Polyangium fuscum Zellulose- und Chitinreaktionen gemacht, die negativ ausfielen. Ich habe versucht, den Farbstoff der Hülle zu lösen, es ist nicht gelungen. Der Farbstoff ist unlöslich in kochendem Wasser, kochendem Glyzerin, Alkohol, Äther, Aceton, Xylol, Benzol, Benzin, Schwefelkohlenstoff, Chloroform.

d) Fruchtkörper von Myxococcus ruber.

Die Fruchtkörper des Myxococcus ruber zeigen gewöhnlich kugelige Form, daneben kommen auch keulenförmige Formen vor. Besonders auffallend sind gestielte Fruchtkörper, wie ich sie häufig auf Gypsplatten, die auf Kaninchenmist aufgelegt waren, fand. Baur (1905. p. 113) hat auch schon solche gestielte Fruchtkörper beobachtet, er schreibt darüber: „Wenn die Sporenhaufen erst eine gewisse Höhe erreicht haben, zeigen die Stäbchen eine ausgesprochene Tendenz, unter ihnen sich anzusammeln, so kommt es, daß die Fruchtkörper sich von der Unterlage erheben, oft wie gestielt erscheinen. Zur Ausbildung eines aus festgewordenem Schleime bestehenden eigentlichen Stieles, wie bei Chondromyces und Myxococcus stipitatus Thaxter kommt es dagegen bei Myxococcus ruber nicht.“ Der Umstand, daß es sich bei Chondromyces crocatus um einen Stiel handelt, der gleichfalls aus Stäbchen gebildet ist, zeigt, daß der Stiel des Myxococcus ruber nichts prinzipiell verschiedenes ist. Der gelegentlich bei Myxococcus ruber vorkommende Stiel zeigt wie möglicherweise das Anfangsstadium des Cystophors in der phylogenetischen Entwicklung gewesen sein kann.

7. Einige physiologische Versuche mit Myxococcus ruber und Chondromyces crocatus.

Wie Baur (1905. p. 116) berichtet, besitzen die Sporen von Myxococcus ruber den vegetativen Stäbchen gegenüber eine größere Widerstandsfähigkeit, namentlich in Bezug auf Austrocknen. Die Widerstandsfähigkeit der Sporen ist an sich nur sehr gering, namentlich im Vergleiche mit den meisten Bakteriensporen. 1—2 Monate alte Sporen vertrugen 1 Minute langes Erhitzen in sterilem Wasser bei 80° nicht, wie mehrfach wiederholte Versuche lehrten.

E. de Kruyff (1908. p. 386) gibt für Myxococcus javanensis an, daß geringe Mengen von Säure oder Alkali die Sporenkörperbildung verhinderten.

Ich habe versucht wie stark alkalisch und sauer ein Nährboden sein darf, um Myxococcus ruber vegetatives Wachstum und Fruchtkörperbildung zu gestatten. Ich verfuhr bei meinen Versuchen in der Weise, daß ich zu je 10 ccm völlig neutral gemachtem Kaninchenmistagar 10 + 100 (der Nährboden ist in der vorher angegebenen Weise hergestellt, schwach alkalisch) tropfenweise (ich benutzte zu diesem Zwecke stets dieselbe Pipette) Normalnatronlauge, resp. Normalsalzsäure zusetzte. Um etwas genauer den Alkali- und Säurezusatz zu bestimmen stellte ich fest, wieviel ccm 100 Tropfen ausmachen und berechnete hiernach die Menge des Zugesetzten. Da ich sah, daß schon ein Tropfen Normalsalzsäure die Entwicklung von Myxococcus ruber hindert, benutzte ich weiterhin $^1/_{10}$ Normalsalzsäure.

Die Versuche verliefen folgendermaßen:

$^1/_{10}$ Normalsalzsäure: 10 ccm **Kaninchenmistagar mit**

1,	2,	4,	8	Tropfen
+	+	+	—	
2,	3,	6,	7	Tropfen
+	+	—	—	
4,	5			Tropfen
+	—			

Normalnatronlauge: 10 ccm **Kaninchenmistagar mit**

1,	2,	4,	8	Tropfen
+	+	+	+	
12,	16,	20		Tropfen
+	—	—		
10,	12,	14		Tropfen
+	+	—		

Es genügt also ein Zusatz von 4—5 Tropfen $^1/_{10}$ Normalsalzsäure einerseits und 12—14 Tropfen Normalnatronlauge andrerseits zu 10 ccm neutralem Kaninchenmistagar, um die Entwicklung von Myxococcus ruber zu verhindern. 100 Tropfen aus der benutzten Pipette entsprechen 4,5 ccm. Die Maximalmenge der $^1/_{10}$ Normalsalzsäure, die Entwicklung noch gestattet, beträgt auf 10 ccm Kaninchenmistagar also ca. 0,18 ccm, die Maximalmenge der Normalnatronlauge ca. 0,54 ccm. Myxococcus ruber verträgt also 30 mal mehr Natronlauge, als Normalsalzsäure.

Bei dem Salzsäurezusatz fand überhaupt keine Fruchtkörperbildung statt, es erfolgte nur schwache vegetative Entwicklung. Bei Zusatz der Natronlauge war die Erscheinung interessant, daß von 4 Tropfen ab ein Eindringen der Stäbchen in den Agar erfolgte. Die Schnelligkeit der Ausbreitung wurde durch den Zusatz ganz bedeutend herabgesetzt. Die Ausbreitung der Kolonie betrug 10 Tage nach der Impfung auf dem Substrate mit 8 Tropfen Normalnatronlauge 1,5 cm, mit 10 Tropfen 5 mm, mit 12 Tropfen 2 mm.

Die Fruchtkörperbildung wird schon durch einen Zusatz von 6 Tropfen verhindert. Bei einem Zusatz von 4 Tropfen traten folgende Abweichungen von dem normalen Verhalten ein. Von der punktförmigen Impfstelle aus breitete sich die Kolonie zunächst etwa 1 cm im Durchmesser aus, machte dann Halt und drang etwa ¾ cm tief in den Agar ein, wobei derselbe an der betreffenden Stelle einsank, so daß sich eine Vertiefung in der Agaroberfläche bildete. 5 Tage nach der Impfung wurden nun nicht zuerst in der Mitte der Kolonie wie unter normalen Verhältnissen, sondern am Rande der Kolonie, also am Rande der Vertiefung sehr kleine Fruchtkörper gebildet. Darauf breitete sich die Kolonie auf der Agarfläche, und zwar jetzt ausschließlich hier, weiter aus unter Ausbildung von, in konzentrischen Ringen angeordneten, Fruchtkörpern. Erst 11 Tage nach der Impfung entstanden auch in der Mitte der Kolonie Fruchtkörper.

Schon Baur (1905. p. 112) hat nachgewiesen, daß Myxococcus ruber bei fast völligem Fehlen von Sauerstoff in Wasserstoffatmosphäre nicht wächst. Ich habe das Sauerstoffminimum für Sporenkeimung und Fruchtkörperbildung festgelegt. Bei 1 Mg Sauerstoff im Liter findet keine

Sporenkeimung statt, bei 10 Mg ist sie festzustellen, das Minimum der Sporenkeimung liegt also zwischen 1 und 10 Mg. Dem Minimum der Sporenkeimung entspricht das des Wachstums nicht, bei 10, 15, 33 Mg Sauerstoff im Liter erfolgte keine Weiterentwicklung. Nach 20tägigem Verbleiben bei 66 Mg hatten sich die Stäbchen vermehrt, ihre Gestalt war anormal kurz und dick, Fruchtkörper hatten sie nicht gebildet. Bei 131 Mg waren nach 20 Tagen normale Fruchtkörper mit normal geformten Sporen gebildet. Das Minimum der Fruchtkörperbildung liegt also zwischen 66 und 131 Mg. Als Substrat benutzte ich Kaninchenmistagar 10 + 100. Die Temperatur betrug 20—25°. Die Kulturvakua wurden meist jeden 2. Tag geöffnet und wieder auf die vorherige Sauerstoffspannung gebracht.

Für Chondromyces crocatus, mit dem ich weniger Versuche anstellte, da er rein zu schlecht wächst und unreine Kulturen natürlich ungenaue Resultate ergeben, scheinen die Verhältnisse sehr ähnlich wie bei Myxococcus ruber zu liegen. Ich kultivierte, um das Minimum der Fruchtkörperbildung annähernd festzustellen, zunächst bei gewöhnlicher Sauerstoffspannung bis die ersten Fruchtkörper ausgebildet waren, diese entfernte ich und züchtete dann bei verminderter Sauerstoffspannung. 10 Tage nach dem Einstellen in die Kulturvakua fand ich, daß bei 133 Mg sehr wenige und kümmerliche, bei 167 Mg wenige, aber durchaus normale Fruchtkörper gebildet waren. Als Substrat wurde bei Chondromyces crocatus sterilisierter Kaninchenmist verwandt.

Ich habe untersucht ob Myxococcus ruber Diastase bildet, wobei ich mich des von Gottheil (1901. p. 463) angegebenen Verfahrens bediente, ich fand, daß Myxococcus ruber in Dextrose (0,5 Proz.)- Pepton (0,5 Proz.) Lösung reichlich, in Maisabkochung, in welcher er gut wächst, keine Diastase bildet.

Was Säure-Alkalibildung anbelangt, so zeigte es sich, daß Myxococcus ruber in dieser Beziehung fast gänzlich indifferent ist. Der Organismus hatte Kaninchenmistabkochung 3 + 100. die vor der Impfung vollkommen neutral gemacht war, nach 20 tägigem Wachstum ganz schwach alkalisch gemacht.

Ich habe untersucht, ob die Cystophore von Chondromyces crocatus heliotropisch und hydrotropisch sind. Bei der Versuchsanordnung verfuhr ich im Wesentlichen wie Klebs (1898. p. 1). Um festzustellen ob die Cystophore heliotropisch sind, umhüllte ich die Kulturschale mit einer dicken Schicht schwarzen Papiers und machte an einer Seite eine kleine Öffnung für die einfallenden Lichtstrahlen. Nachdem sich zahlreiche Fruchtkörper entwickelt hatten stellte ich fest, nach welcher Seite die Mehrzahl der Cystophore geneigt war. Ich markierte am Rande der Schale durch Striche die Richtung der Cystophore und entfernte jedesmal sofort die betreffenden Fruchtkörper, um nicht etwa dieselben mehrere Male in Betracht zu ziehen. Alle Kulturschalen, die ich in dieser Weise geprüft hatte, zeigten ziemlich gleichmäßig an ihrem Rande verteilt die Markierstriche. Durch Licht wird also kein Einfluß auf die Richtung der Cystophore ausgeübt.

Auf Hydrotropismus untersuchte ich in der Weise, daß ich eine Glasplatte auf das möglichst eben gedrückte Substrat (Kaninchenmist) legte. Nachdem reichlich Fruchtkörper gebildet waren, stellte ich die Richtung der Cystophore im Bereiche des Randes unterhalb der Glasplatte fest, wobei ich in der vorher angegebenen Weise verfuhr. Ich habe eine Anzahl derartiger

Kulturen untersucht und konnte weder positiven noch negativen Hydrotropismus feststellen.

8. Systematische Stellung der Myxobakterien.

Thaxter (1892) hat der systematischen Stellung der Myxobakterien in Bezug auf die Bakterien eine eingehende Besprechung gewidmet; die Stellung, welche er zu dieser Frage einnimmt, geht wohl am klarsten aus der Äußerung hervor, daß der allgemeine Charakter und die Struktur dieser stäbchenartigen Individuen und ihre vegetative Vermehrung durch Teilung ihre Schizomyceten-Natur über allen Zweifel erhaben sein lasse. Mit Bezug auf die Akrasieen äußert er sich dahin, daß der wichtigste Unterschied bei einer Vergleichung der Myxobakterien und der Akrasieen in der fundamentalen Differenz der Zellenstruktur bestehe, da der Schritt von amöboiden Zellen bis zu ausgesprochenen Stäbchen sehr groß sei.

Vuillemin (1893. p. 501) vertritt den Standpunkt, daß der Familie der Bakterien, als einer nicht fruchtkörperbildenden Gruppe, eine fruchtkörperbildende gegenübergestellt werden müsse, zu der die Myxobakterien zuzurechnen seien.

Baur (1905. p. 121) tritt entschieden dafür ein, daß es sich bei den Myxobakterien um Organismen handle, die mit den Schizophyten übereinstimmten. Er meint, daß es heute wohl noch nicht zu entscheiden sei, welche von den übrigen bekannten Schizophyten wir als die nächsten Verwandten der Myxobakterien ansprechen dürften. Den Gedanken an eine Verwandtschaft mit den Akrasieen weist er entschieden zurück. —

Wenn wir die Myxobakterien mit den Eubakterien vergleichen, zu denen wir die Bakteriazeen, Spirillazeen und Coccazeen rechnen, also alle die Formen, welche mit der Gattung Bacillus sicher verwandt erscheinen, so können wir mit Bestimmtheit sagen, daß die Myxobakterien keinesfalls näher mit diesen Organismen verwandt erscheinen; sie zeigen vielmehr, wie wir sehen werden, bedeutend mehr Ähnlichkeiten mit den Myxomyceten. —

Ganz entscheidende Differenzen finden sich zuerst im Bau der Stäbchen der Myxobakterien und der Oidien der Eubakterien: Die Stäbchen der Myxobakterien bilden bei ihrer Teilung keine Scheidewand, teilen sich vielmehr durch Ausziehen in der Mitte. Es bilden sich ferner bei den Myxobakterien niemals Zellfäden, während diese bei den Eubakterien vorkommen. Bei den Stäbchen der Myxobakterien finden wir eine pellikulaähnliche Hülle, anscheinend ein alloplasmatisches Organ, welches sehr klebrig, aber nicht von Schleim bedeckt ist, während die Eubakterien eine normale Zellwand bilden, die außen mit einer mehr oder weniger starken Schleimschicht bedeckt ist. — Die Fortbewegung der Eubakterien geschieht durch Geißeln. Solche Gebilde fehlen den Myxobakterien, deren Fortbewegung sehr eigenartig, aber in ihrer Mechanik leider noch nicht aufklärbar ist. Es macht ganz den Eindruck, als ob die Bewegung durch die klebrige Außenschicht der alloplasmatischen Pellikula bewirkt würde. — Das Verhalten des Protoplasten der Myxobakterien stimmt vorzüglich auch in Bezug auf die „Kerne“ nicht mit dem der Eubakterien überein. Die Entwicklungsgeschichte und die Morphologie der fertigen Sporen, sowie die Keimung der Sporen ist durchaus von der der Eubakterien verschieden.

Wie gesagt verhält es sich mit den Ähnlichkeiten und Unähnlichkeiten zwischen den Myxobakterien und den Myxomyceten ganz anders. Die Eigenschaften der Stäbchen sind derart, daß man die Stäbchen als ihrer Form

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

nach stabiler gewordene Amöben ansehen kann und zwar würden wir die Amöben der Dictyosteliazeen als die plastischsten, die der Guttulinazeen als die in ihrer Form schon etwas fixierteren und die Myxobakteriazeen als die in ihrer Form fixiertesten betrachten. — Die Limaxgestalt der Amöben von Guttulina, die nach Fayod (1883. p. 171) sogar eine Hüllschicht aufweisen, ähnelt schon sehr der Form unserer Myxobakterienstäbchen, die ebensowohl wie die Limax-Amöben sich abzurunden imstande sind, wie wir das ja bei der Sporenbildung erkennen. Die Sporenbildung ist sowohl bei den Dictyosteliazeen als auch bei den Guttulinazeen ähnlich wie bei den Myxobakteriazeen. — Wenn wir auch davon absehen, daß Thaxter ein Abstoßen der Sporenhülle bei der Keimung beobachtet hat, finden wir doch auch bei Olive (1902. p. 483) bei Guttulinopsis und Sappinia Sporen, welche ebenso keimen wie unsere Myxobakteriazeen. — Besonders aber ist es die Fruchtkörperbildung der Myxobakteriazeen, welche sich gerade nach unsern neusten Resultaten mit denen der Akrasieen (vgl. Brefeld 1884) im allgemeinen vergleichen läßt. Die Bildung des Stieles der Fruchtkörper von Dictyostelium und von Chondromyces findet in ganz analoger Weise statt und die Sporenbildung verläuft bei Dictyostelium und Myxococcus ruber in gleicher Weise.

Wir sind deshalb wohl berechtigt, zu sagen, daß die Myxobakterien die größten Ähnlichkeiten mit den Myxogastreen und Akrasieen zeigen und daß wir deshalb vorläufig sagen können, sie seien im allgemeinen zu den Myxomyceten zu stellen. Man würde sie am besten als eine besondere Familie neben den Guttulinaceen und Dictyosteliaceen stellen.

B. Anhang. Monographie von Bacillus oxalaticus Kuntze.

In seiner Arbeit „Über den Zellinhalt von Bac. oxalaticus Zopf" teilt Migula (1897. p. 139) mit: „Vor einigen Jahren erhielt ich von Prof. Dr. Zopf eine lebende Bakterienkultur unter dem Namen oxalaticus, eine Art, welche meines Wissens vom Autor noch nicht publiziert ist." Eine Publikation über diesen Bacillus ist von Zopf auch bis jetzt nicht erfolgt. Weshalb eigentlich der Organismus „Bac. oxalaticus" genannt wurde, ist unklar, um so mehr, als Zopf in seiner 1900 erschienenen Arbeit: „Oxalsäurebildung durch Bakterien" ihn nicht als Oxalsäurebildner angibt. Ebensowenig wird er in der Arbeit von Banning (1902. p. 395): „Zur Kenntnis der Oxalsäurebildung durch Bakterien" erwähnt, die unter Zopfs Leitung entstanden ist.

Migula liefert dann in seinem „System der Bakterien" (1900. p. 538) eine Beschreibung, von der für eine Wiedererkennung folgende Charakteristika in Betracht kommen: Sporen: ellipsoid, 1,2×1,8 μ, in der Mitte der Zellen gebildet, je nach Kultur verschieden groß. Stäbchen 2⅓—3×4—30 μ. Bei 30 μ gewöhnlich mehrfache Teilungen. Trichterförmige Verflüssigung der Gelatine. Gelatineplatte: weißliche Kolonien. Agar: schmutzigweiße, etwas ins Neapelgelb spielende Überzüge. Begeißelung zart. 6—8—14 Geißeln an einem Stäbchen von gewöhnlicher Länge.

Nachgeprüft haben einen „Bac. oxalaticus" Lehmann und Neumann (1907. p. 424). Ihr Material stammt von Kral, und es ist fraglich, ob letzterer es von Migula resp. Zopf erhalten hat. Lehmann und Neumann berichten, daß die „Stäbchen" sich durch ihre relativ geringe Breite (0,8—1,6 μ) erheblich von denen unterschieden, die Migula vor sich gehabt hätte, daß Beweglichkeit und Geißeln ebenfalls fehlten. Als diagnostisches Merkmal geben sie weiter an: „Im Gelatinestich ist die Verflüssigung trichterförmig, Inhalt trübe, Häutchen vorhanden. Gelatineplatte: Anfangs wie Colikultur, später krümelig. Agarstrich: Von einer Milzbrandkultur nicht zu unterscheiden. Kartoffel: Rein weiße, trockene, später saftig glänzende erhabene Auflagerungen. Bouillon bleibt fast klar."

Als letzte Arbeit, in der „Bac. oxalaticus" etwas eingehender behandelt wird, findet sich in der Literatur die von Kuntze (1904. p. 1): „Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien." Kuntze sagt über sein aus Mist isoliertes Material folgendes: „Die Reinkultur stimmt in morphologischer und physiologischer Beziehung vollständig mit den von Migula für Bac. oxalaticus gegebenen Merkmalen überein, auch hatte Herr Prof. Zopf selbst, dem ich eine Kultur übersandte, die Güte, mir mitzuteilen, daß er nach Form und Dimension der vegetativen wie der sporenbildenden Zellen und Sporen selbst, ebenfalls glaube, sein Patenkind wiederzuerkennen."

Diagnostische Merkmale sind nur wenige angegeben. Als Reservestoff ist Fett erwähnt. Ferner wird gesagt, daß polare, bisweilen schräge Sporenkeimung stattfinde, und daß Milch koaguliert und peptonisiert werde.

Um die Angaben aus der Literatur zu vervollständigen, sei erwähnt, daß Löhnis und Pillai (1907. p. 87) berichten, der von Kuntze isolierte und ihnen zur Verfügung gestellte Bac. oxalaticus bilde auf Bodenextrakt-Mannitagar eigenartige Rübenformen und binde geringe Mengen von Stickstoff.

Kuntze sagt also, daß sein Bac. oxalaticus in morphologischer und physiologischer Beziehung mit dem von Migula beschriebenen übereinstimmt. Leider genügen die Beschreibungen von Migula und von Lehmann und Neumann ebensowenig zur Wiedererkennung wie die wenigen Angaben von Kuntze.

Die Wuchsformen auf den verschiedenen Nährböden sind für die Diagnose nur von untergeordneter Bedeutung, von den morphologischen Merkmalen sind nur die Oidien- und Sporengrößen angegeben und von den physiologischen nur die Verflüssigung der Gelatine. Als entscheidend kann auch nicht die Ansicht von Zopf gelten, der ja nur Oidien- und Sporengröße berücksichtigte. Es ist wohl möglich, daß Kuntze denselben Organismus bearbeitet hat wie Migula und Lehmann und Neumann, die angegebenen Merkmale sprechen nicht dagegen, beweisen aber durchaus nichts. — Da keiner von den existierenden Diagnosen der Vorzug vor den andern gegeben werden kann, weil sie gleich ungenügend sind, so ist es auch einerlei, welches Material zu einer eingehenden Beschreibung benutzt wird. Der von Kuntze isolierte Bacillus bildet auf Dextroseagar etwas besser Sporen als der von Král stammende, ist also zu bakteriologischen Arbeiten geeigneter.

Obgleich die Beschreibung von Kuntze nicht eingehend genug und zur Wiedererkennung ungeeignet ist, soll der hier genauer zu beschreibende Organismus Bac. oxalaticus Kuntze genannt werden, da er von Kuntze isoliert wurde.

Ich gehe nun zur Beschreibung des Bac. oxalaticus Kuntze über. Ich schicke voraus, daß alle Angaben, die ich mache, sich auf Material beziehen, das bei einer Temperatur von 28° auf Dextroseagar kultiviert wurde, sofern nicht ausdrücklich etwas anderes gesagt ist.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

a. Morphologische Merkmale.

Die Sporen von Bac. oxalaticus haben eine meist ovale Gestalt, das Verhältnis der Länge zur Breite ist wechselnd, gelegentlich beobachtet man kugelförmige Sporen (F. 41). Die mittlere Länge aus den Messungen von 100 auf Dextroseagar gebildeten Sporen beträgt 1,2 μ, die mittlere Sporenbreite 0,8 μ. Die kleinste Sporenlänge ist 0,8 μ, die größte 1,0 μ. Exine und Intine sah ich am deutlichsten, nachdem die Sporen zur Prüfung auf Chitin, die übrigens negativ ausfiel (vgl. Garbowski 1908. p. 109) mit Kalilauge auf 160° erhitzt waren. Die Dicke der bei der Keimung gequollenen Sporen beträgt 1—1,3 μ, die Länge 2,5—3 μ (F. 42).

Die Keimung erfolgt polar. Die Keimstäbchen sind 1,0—1,2 μ dick und 4—5 μ lang (F. 43). Die Keimstäbchen selbst scheinen unbeweglich zu sein, wenigstens habe ich nie bewegliche Oidien gesehen, welche die Sporenmembran mitschleppten.

Schwärmer: Es kommen meist Doppelschwärmer vor, die einzelnen Stäbe haben eine Dicke von 1—1,4 μ, eine Länge von 5—7 μ (F. 45). Bei Einzelschwärmern wurden dieselben Größenverhältnisse gefunden (F. 44). Es fanden sich auch kurze wenigstäbige Schwärmfäden (F. 46). Die Schwärmbewegung ist langsam. Die Langsamkeit der Bewegung weist schon auf schwache Begeißelung hin und dementsprechend wurden keine schönen Geißelfärbungen erzielt. Die erhaltenen Bilder genügten gerade, peritriche Begeißelung feststellen zu können. Die Schwärmfähigkeit pflegt nur kurze Zeit anzuhalten, bei 28° auf Dextroseagar nur eine bis höchstens 2 Stunden.

Die nach dem Schwärmstadium auftretenden Oidienformen wechseln je nach den Kulturbedingungen in Form und Größe, doch lassen sich einige Haupttypen aufstellen, denen man immer wieder begegnet. Schon neben den Schwärmern und in vielen Kulturen bis zur Sporenbildung trifft man lange unseptierte oder nur wenigseptierte Fäden an, es wurden unseptierte Fäden von 15—60 μ Länge und 1,2—1,5 μ Dicke gemessen (F. 47 u. 47a). Nach den Schwärmern pflegen ruhende Doppeloidien vorherrschend aufzutreten von der Gestalt der Schwärmer, begleitet sind diese Doppeloidien von Einzeloidien und kurzen Fäden. Die Fäden haben selten mehr als 3—4 Stäbe. Mit dem Älterwerden der Kultur gehen die Oidien immer mehr und mehr aus der Stäbchenform in die ovale Form über (F. 44, 45, 46—48, 49, 50, 51, 52, 53). Die Maße solcher Oidien sind meist 1,5—2 × 2—3 μ; gelegentlich kommen also auch runde vor. Man findet sie einzeln oder paarweise oder als Fäden mit bis zu 8 Stäben (F. 51—53). Die Stäbe können zweizellig, höchstens vierzellig sein. Durch Zusatz von Methylenblau 1 + 10 oder besser Fuchsin 1 + 10 zu in Wasser liegenden, lebenden Oidien wird zunächst die Membran gefärbt, die eine Dicke von ca. 0,2 μ besitzt (F. 44). Während der Farbstoff ganz langsam in das Innere des Stäbchens dringt, werden Körnchen von gleichmäßiger Größe gefärbt, meist in jeder Zelle 1—2, es können aber auch mehrere sein, bis zu 6 wurden beobachtet. Auf Zusatz von 1proz. Schwefelsäure wurden die Körnchen sofort entfärbt, wahrscheinlich handelte es sich hier um Kerne. (Vgl. Arth. Meyer 1908. p. 338). Mit dem weiteren Eindringen des Farbstoffes in das Zellinnere wurde die Membran weniger sichtbar, die Körnchen waren noch längere Zeit zu sehen. Fixiert man vor der Färbung mit Osmiumsäure, so werden Membran und Körnchen gleichzeitig gefärbt, erstere ist sehr bald nicht mehr zu sehen.

Sporangien kommen als Einzelsporangien, Doppelsporangien und als 3—16stäbige Fäden vor (F. 54—57). Die Stäbe sind 1—4zellig, meist 2zellig. Die Einzelsporangien, die selten sind, haben ovale Gestalt, ihre Maße betragen 3—4×1,3—1,8 μ. Die Scheidewände bei Doppelsporangien und mehrstäbigen Fäden sind häufig nur durch Färbung nachweisbar. Teilweise werden sämtliche Stäbe eines Fadens zu Sporangien, teilweise die Mehrzahl. teilweise die Minderzahl. Die Stäbe eines Fadens, welche nicht zu Sporangien werden, werden inhaltslos. Die Lage der Sporangien zu den sporenlosen Stäben ist unbestimmt, die Sporangien können an den Enden oder auch in der Mitte liegen. Die Sporen sind in den Sporangien regellos orientiert, teils liegt die Längsachse der Sporen in der der Sporangien, meistens bilden die Längsachsen einen Winkel, gelegentlich einen rechten.

Schleim wird von Bac. oxalaticus reichlich abgeschieden. Die die Oidien umschließende Schleimhülle läßt sich durch Tusche leicht nachweisen (F. 60).

Als Reservestoff wird Fett gebildet, und zwar meist nur in sehr geringer Menge (F. 61). Es fand sich schon in den nach den Schwärmern auftretenden Ruheoidien und war bis zu einem mittleren Alter der Kultur nachzuweisen. In den Sporangien wurde niemals ein Reservestoff angetroffen. Oidien aus alten Kulturen enthielten gelegentlich Fett in reicherer Menge, namentlich die langen unseptierten und wenig septierten Fäden. Auch in Oidien, die bei einem Sauerstoffgehalt von 10—70 mg im Liter gewachsen waren, fand sich Fett in etwas größerer Menge.

b. Entwicklungsgang auf verschiedenen Nährböden.

Bei der Feststellung des Entwicklungsganges auf den verschiedenen Nährböden wurden folgende Regeln eingehalten: Wegen der relativ geringen Widerstandsfähigkeit der Sporen einerseits, und wegen der Gefahr, daß bei zu kurzem Erhitzen nicht alle Oidien getötet würden andererseits, wurden die Sporen stets ¾ Minute erhitzt. Die Sporen hatten ein Alter von 4—8 Wochen, es wurde darauf geachtet, daß möglichst gleich große Quantitäten zur Aussaat gelangten. Die Sporen wurden in der Weise ausgesät, daß sie mit dem Wasser, in dem sie erhitzt waren, in das Kondenswasser gegossen, dann durch kurzes Schräghalten des Kulturröhrchens auf der Agarfläche verteilt wurden (vgl. Garbowski 1907. p. 446).

Dextroseagar.

Die Keimung tritt nach 6 Stunden ein (F. 42 u. 43).

7 Stunden nach der Aussaat wird makroskopisch etwas sichtbar: Ganz feiner Belag auf dem Agar, der etwa so aussieht wie wenn sich Wasserdampf auf einer glatten Fläche kondensiert. — Mikroskopisches Bild (Material von der Mitte der Agarfläche entnommen): Meist Doppelschwärmer (F. 45), daneben Einzelschwärmer (F. 44) und bewegliche septierte Fäden (F. 46). Unseptierte Fäden bis zu 60 μ Länge (F. 47 u. 47a) unbeweglich.

8 Stunden: Die Agarfläche erscheint mit dicht neben einander liegenden feinen, farblosen Tröpfchen bedeckt. — Mikroskopisches Bild (Material von der Mitte der Agarfläche): Das Schwärmen hat aufgehört, die Gestalt der Oidien hat sich gegen die der 7 Stunden alten Kultur nicht geändert. Die Oidien enthalten geringe Mengen von Fett (F. 61).

15 Stunden: Perlglänzender weißer Belag mit einem Stich ins gelbliche. Die Schicht verrät ihre Entstehung aus zusammengeflossenen Einzelkolonien noch an vielen Stellen deutlich, nur an den Stellen der kräftigsten

Entwicklung hat sie einen vollständig homogenen Charakter. Konsistenz der Kolonie schleimig. Kondenswasser getrübt, reichliche Entwicklung am Boden. — Mikroskopisches Bild (Material vom oberen Teil der Agarfläche): Kürzere und dickere Oidien, als sie die 8 Stunden alte Kultur zeigt. Meist Doppeloidien (F. 49), daneben 3—4stäbige Fäden und wenige Einzeloidien (F. 48). — Material vom mittleren Teil der Agarfläche: Dieselben Formen, daneben aber unseptierte und wenig septierte Fäden (F. 47) von verschiedener Länge. — Material aus dem Kondenswasser: Septierte und wenig septierte Fäden in größerer Menge. — In den Oidien der 15 Stunden alten Kultur findet sich hin und wieder wenig Fett.

22 Stunden: Homogene Schicht von schleimiger Konsistenz. — Mikroskopisches Bild (Material von der Mitte der Agarfläche): Große ovale Einzel- und Doppeloidien (F. 51 u. 52). Wenig unseptierte Fäden (F. 47). Einzel- und Doppelsporangien (F. 55 u. 56), vereinzelte mehrstäbige Sporangienfäden (F. 57). Keine freien Sporen, kein Fett.

26 Stunden: Makroskopisches und mikroskopisches Bild unverändert. Noch keine freien Sporen.

40 Stunden: Der Belag ist dünner als früher, Konsistenz weniger schleimig. — Mikroskopisches Bild (Material von der Mitte der Agarfläche): Meist Sporen, daneben Sporangien, Einzelsporangien, Doppelsporangien, mehrstäbige Sporangienfäden (F. 55—57). Verschiedene Oidienformen (F. 48—50, 51—53), ferner Involutionsformen (F. 58). Material aus dem Kondenswasser: Wenig Sporen und Sporangien (F. 55, 56). In überwiegender Zahl verschiedene Oidienformen, namentlich wie sie die Figuren 44, 45, 46, 48 zeigen. Zahlreiche unseptierte und wenig septierte Fäden (F. 47).

⅓ Dextroseagar.

Der Entwicklungsgang ist im wesentlichen derselbe wie auf Dextroseagar. Die Intensität des Wachstums ist geringer.

Agar ohne Dextrose.

Hier wird der Entwicklungsgang von Spore zu Spore schneller durchlaufen. Die 7 und 8 Stunden alten Kulturen zeigen von den entsprechenden Dextroseagar-Kulturen nichts verschiedenes. Das mikroskopische Bild der 15 Stunden alten Kultur ist ein anderes, ebenso das der 22 und 26 alten.

15 Stunden alte Kultur von Agar ohne Dextrose: Material von der Mitte der Agarfläche: Doppeloidien und kurze septierte Fäden, meist mit noch nicht fertig ausgebildeten Sporenanlagen (F. 54). Material aus dem Kondenswasser: Kurze septierte Fäden, Doppeloidien und Einzeloidien ohne Sporenanlage (F. 48—50). In den Oidien ohne Sporenanlage Fett in etwas größerer Menge als in den Oidien aus gleich alten Dextroseagarkulturen.

22 Stunden alte Kultur: Doppelsporangien und Sporangienfäden mit fertig ausgebildeten Sporen (F. 56 u. 57). Einzelne freie Sporen.

26 Stunden alte Kultur: Meist freie Sporen neben Sporangien (F. 55—57).

Die 40 Stunden alte Kultur ist von der entsprechenden Dextroseagarkultur nicht verschieden.

Auf den Kartoffel- und Möhrenkulturen pflegen die Oidien teilweise größer zu sein als auf den Agarkulturen, besonders große Oidien trifft man in alten Kartoffel- und Möhrenkulturen an.

Kartoffel.

8 Stunden nach der Aussaat makroskopisch keine Veränderung. Mikroskopisches Bild: Sporen haben etwas an Glanz verloren. Keimung ist noch nicht erfolgt.

9 Stunden: Makroskopisch keine Veränderung. Mikroskopisches Bild: Schwärmer und unbewegliche unseptierte und wenig septierte Fäden (F. 45, 46, 47).

15 Stunden: Makroskopisch keine Veränderung. — Mikroskopisches Bild: Ruhende Einzel- und Doppeloidien (F. 44 u. 45), unseptierte und wenig septierte Fäden. Auch kurze, dicke Zellen (F. 48—50).

25 Stunden: Makroskopisch: Schleimiger, zäher Belag. — Mikroskopisches Bild: Vorherrschend kurze septierte Fäden (F. 53). (Die Oidien sind meist größer als die auf Dextroseagar.) Ferner wenig septierte und unseptierte Fäden.

60 Stunden: Makroskopisch: Dicker grauer Belag, der nicht fadenziehend ist. — Mikroskopisches Bild: Neben den zahlreichen Sporen fallen besonders große Oidienformen auf (F. 59).

Möhre.

Der Entwicklungsgang zeigt gegenüber dem auf der Kartoffel keine erheblichen Verschiedenheiten in bezug auf Oidien- und Sporangienformen, nur schreitet er langsamer vorwärts. Die 9 Stunden alte Kultur zeigt z. B. noch keine Keimungen. Schwärmer finden sich erst in der 15 Stunden alten Kultur.

Entwicklungsgang auf Dextroseagar bei 15°.

24 Stunden nach der Aussaat: Makroskopisch und mikroskopisch keine Veränderung.

32 Stunden: Makroskopisch keine Veränderung. — Mikroskopisch: Nur wenig Sporen haben gekeimt. Oidien von der Gestalt der 7 Stunden alten Kultur bei 28° ohne Bewegung (F. 44, 45, 46).

48 Stunden: Makroskopisch: Agarfläche mit feinen Tröpfchen besät. Mikroskopisch: Meist kurze septierte Fäden (F. 46), vereinzelte Doppeloidien (F. 45).

100 Stunden: Makroskopisch: Etwa wie die 15 Stunden alte Kultur bei 30°. — Mikroskopisch: Die Oidien sind kürzer und dicker als in der 48 Stunden alten Kultur (F. 48, 49). Es finden sich vereinzelte unseptierte resp. wenig septierte Fäden (F. 47). Sporenanlagen noch nicht vorhanden.

120 Stunden: Makroskopisch: Agarbelag etwa wie bei der 26 Stunden alten Kultur bei 30°. — Mikroskopisch: Meist Einzel- und Doppelsporangien (F. 55 u. 56). Daneben dicke kurze Oidien paarweise oder kurze Fäden bildend.

140 Stunden: Mikroskopisch: Freie Sporen neben Sporangien und sporenlosen Oidien (F. 55, 56 u. 52, 53).

Agarstrich bei 28° (Dextroseagar).

24 Stunden nach der Impfung: Koloniebreite ca. 4 mm. Die Kolonie hat ein glasiges, homogenes Aussehen.

100 Stunden: Kolonie nicht breiter geworden.

Agarstich bei 28° (Dextroseagar).

24 Stunden nach der Impfung: Auf der Oberfläche kräftige Schicht.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nur im oberen Teil des Stiches gutes Wachstum. Vom Stiche aus ist die Kolonie in Schleiern in den Agar eingedrungen.

100 Stunden: Keine wesentliche Veränderung.

c. Physiologische Merkmale.

Wachstum in verschiedenen Nährlösungen.

Bei der Untersuchung des Wachstums in den verschiedenen Nährlösungen habe ich untersucht, ob nach 14 Tagen Sporen gebildet waren und wie die anfangs neutrale Reaktion verändert war. In der Tabelle bedeutet + Sporenbildung, — keine Sporenbildung, a = deutlich alkalisch, s. a. = schwach alkalisch, s. = deutlich sauer, s. s. = schwach sauer.

Nährlösung	0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Wachstumsintensität	2	3	3	2	0	3	2	1	2	2	2	3	0	3	4	0
Sporenbildung . . .	—	—	+	—		—	—	—	—	—	—	+		—	—	
Reaktion	s. s.	s. s.	s. s.	a		s. a.	s. s.	s.	neutral	a	s. s.	s. s.		s. s.	s. s.	

Säurebildung.

Zur Neutralisation der in 50 ccm der Nährlösung VII 4 Wochen nach der Impfung gebildeten Säure wurden in einem Falle 5,5 ccm, in einem zweiten 6, in einem dritten 7,3 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge gebraucht (abgerechnet ist die Menge Lauge, die zur Neutralisation von 50 ccm Nährlösung VII gebraucht wurde, die nicht geimpft war).

Gas.

wird von Bac. oxalaticus nicht gebildet.

Gelatine

wird verflüssigt. 40 Stunden nach der Impfung war in einem Falle (Nährgelatine mit Dextrose — Zimmertemperatur ca. 20°) der Beginn der Verflüssigung zu konstatieren, 10 ccm waren in einem Kulturröhrchen von 1,5 cm Weite nach 20 Tagen verflüssigt. Die Verflüssigung schreitet trichterförmig vorwärts.

Diastase.

Die Untersuchung auf Bildung von Diastase habe ich nach der von Gottheil (1901. p. 463) beschriebenen Methode durchgeführt und konnte feststellen, daß Diastase gebildet wird. Günstig zum Diastasenachweis dürfte auch eine von Beijerinck vorgeschlagene Methode sein. Ich führte diese folgendermaßen durch: Zu 8 ccm Dextroseagar fügte ich 2 ccm 1proz. Stärkelösung. Dieses Substrat goß ich in Petrischalen und impfte nach dem Erstarren punktförmig an verschiedenen Stellen. Nachdem sich genügend große Kolonien entwickelt hatten, übergoß ich die Platte mit konzentrierter Jodjodkaliumlösung. Es färbte sich nun das Substrat tief blau, nur die Stellen, wo die Kolonien gewachsen waren, und deren Umgebung blieb farblos, da hier die Stärke invertiert war.

Salpetersäurereduktion.

Ich habe versucht, ob Bac. oxalaticus salpetersaure Verbindungen zu salpetrigsauren reduziert. Ich verfuhr dabei folgendermaßen: Ich ließ den Organismus einige Tage in Nährlösung VII, die Kaliumnitrat enthält, wachsen, goß die Nährflüssigkeit dann in ein Uhrgläschen und fügte etwas Schwefelsäure hinzu. Auf Zusatz von Zinkchloridstärkekleister trat keine Bläuung auf. Bei Kontrollversuchen mit Bac. asterosporus trat unter gleichen Bedingungen kräftige Blaufärbung ein.

Sporentötungszeit.

Die auf Dextroseagar gebildeten Sporen besitzen eine relativ geringe Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen. Die Versuche ergaben folgende Resultate:

Tötungszeit bei 100°.

1.: 2 Minuten —, 4—, 6—, 8—, 10—, 12—
2.: ½ Minute +, 1 +, 2 —, 2 +, 3 —, 3 —
3.: 2 Minuten —, 2 +, 2 +
4.: 2½ „ —, 2½ —, 2½ —, 3 —, 3 —, 3 —
5.: 1½ „ +, 1½ +, 1½ —, 2 —, 2 —

Tötungszeit bei 80°.

1.: 30 Minuten +, 45 +, 60 +, 90 +, 120 +,
2.: 50 „ +, 100 +, 125 +, 150 +
3.: 180 „ +, 210 —, 240 —, 240 —
4.: 180 „ +, 190 —, 200 +, 210 —.

Demnach werden die Sporen bei 100° in 1½—2 Minuten getötet, bei 80° in 190—210 Minuten.

Sauerstoffminimum der Sporenkeimung und Sporenbildung.

Das Sauerstoffminimum der Sporenkeimung liegt für Bac. oxalaticus zwischen 4—10 mg Sauerstoff im Liter. Bei 4 mg Sauerstoff im Liter und einer Temperatur von 28° hatten die Sporen nach 20 Tagen noch nicht gekeimt. (Unter normaler Sauerstoffspannung begann nach Beendigung des Versuchs sofort kräftige Entwicklung.) Bei 10 mg Sauerstoff fand sich nach 10 Tagen ein kräftiger Belag auf der Agarfläche. — Die Oidien waren relativ sehr fettreich. Meist Doppeloidien und kurze septierte Fäden. Die Stäbe kurz und dick (F. 52, 53), daneben Involutionsformen (F. 58).

Sporen und Sporangien werden bei dieser Sauerstoffspannung nicht gebildet, auch nicht bei 15 und 30 mg während 20 Tagen. Dagegen erfolgt Sporenbildung bei 70 mg bei einer Temperatur von 28° innerhalb einer Zeit von 20 Tagen. Das Sauerstoffminimum der Sporenbildung liegt demnach zwischen 30 und 70 mg Sauerstoff im Liter.

Temperatur.

Das Temperaturmaximum der Sporenkeimung liegt zwischen 45—47°. (Bei 45° wurde Keimung beobachtet, bei 47° nicht.)

Das Temperaturmaximum der Sporenbildung liegt zwischen 39 und 41°. (Bei 39° Sporenbildung, bei 41° nicht.)

Das Temperaturoptimum der Sporenkeimung liegt zwischen 35 und 39°, ca. bei 37°. (Bei 37° Sporenkeimung nach 5 Stunden, bei 35° noch nicht nach 5 Stunden, bei 39° ebenfalls nicht.)

Das Temperaturminimum der Sporenkeimung und des Wachstums liegt unter 9°. Bei dieser Temperatur war nach 4 Wochen der Impfung schwache Entwicklung zu konstatieren.

d. Vergleich zwischen Bac. oxalaticus Kuntze und Bac. ruminatus A. M. et Gottheil.

Bei einem Vergleich des Bacillus oxalaticus mit den von Gottheil Neide und Blau beschriebenen Bakterienspezies fand es sich, daß Bacillus oxalaticus in manchen Beziehungen dem Bacillus ruminatus so ähnlich war, daß eine Identität nicht ausgeschlossen erschien. Es war deshalb angebracht, die beiden Organismen nebeneinander zu züchten und die für die Diagnose am meisten in Betracht kommenden Eigenschaften unmittelbar zu vergleichen.

Die Sporengröße und -Form ist nicht sehr different, aber Bacillus ruminatus unterscheidet sich scharf durch den Besitz einer membranartigen Sporenhülle von Bac. oxalaticus, dessen Sporen eine derartige Hülle nicht aufweisen (vgl. Gottheil 1901, p. 488). Die Hülle ist am besten bei jungen Sporen von Bacillus ruminatus zu sehen und läßt sich durch Methylenblau 1 + 10 leicht nachweisen.

Die Oidien von Bacillus ruminatus aus einer 8 Stunden alten bei 28° gewachsenen Dextroseagarkultur weisen erheblich größere Fettmengen auf als die von Bacillus oxalaticus unter denselben Bedingungen. (F. 61 u. 62.)

Da die Zeit der Sporentötung auch ein brauchbares diagnostisches Merkmal ist, so habe ich meine Resultate für Bacillus oxalaticus und die Blau's (1906) für Bacillus ruminatus nachgeprüft:

Versuch: Bacillus oxalaticus: 1½ Minuten +, 1½ +, 2 —, 2—, 2½ —, Bacillus ruminatus: 2 Minuten +, 2 +, 4 +, 4 +, 5 —.

Demnach ist hier in der Tat eine Differenz vorhanden. —

Die geringere Widerstandsfähigkeit der Bacillus oxalaticus-Sporen gegenüber den Bacillus ruminatus-Sporen fällt bei Tötungsversuchen mit 80° noch mehr auf, für erstere beträgt sie ca. 3, für letztere nach Blau ca. 9 Stunden.

Das Sauerstoffminimum der Sporenkeimung ist für Bacillus oxalaticus dasselbe wie für Bacillus ruminatus (mit letzterem habe ich dieselben Versuche gemacht wie mit Bacillus oxalaticus). Beider Sporen keimten nicht bei 4 mg, bei 10 mg keimten sie. Auch das Sauerstoffminimum der Sporenbildung ist dasselbe. Aus der Tabelle Wunds (1906, p. 682) geht hervor, daß Bacillus ruminatus bei 70 mg Sauerstoff im Liter keine Sporen bildet. Ich habe gefunden, daß das doch der Fall ist (nach 20 Tagen bei 28°).

In Bezug auf die Temperatur verhalten sich Bacillus oxalaticus und Bacillus ruminatus etwas different. Das Temperaturmaximum der Sporenkeimung liegt für Bacillus ruminatus etwas höher als für Bacillus oxalaticus. Bei 47° sah ich bei Bacillus oxalaticus keine Keimung auftreten (Maximum also unter 47°), wohl aber bei Bacillus ruminatus (Maximum also über 47°), bei dem Blau (1906, p. 101 u. 107) noch bei 50° Keimung konstatiert hat. Auch das Temperaturmaximum der Sporenbildung liegt bei Bacillus ruminatus höher als bei Bacillus oxalaticus. Blau gibt für Bacillus ruminatus 40—45° an. Bei 41° fand ich bei Bacillus ruminatus-Kulturen 3 Tage nach der Impfung reichlich freie Sporen (Maximum also über 41°). In einer Oxalaticus-Kultur waren unter denselben Bedingungen noch nach 10 Tagen keine Sporangien vorhanden (Maximum also unter 41°.) Das Optimum der Sporenkeimung liegt für Bacillus oxalaticus höher als für Bacillus ruminatus, während die Sporen des ersteren bei einer Temperatur von 37° nach 5 Stunden gekeimt hatten, waren die des letzteren nach derselben Zeit noch ungekeimt. Bei 35° zeigten die beiden Organismen ein umgekehrtes Verhalten (Bacillus oxalaticus: Sporen bei 35° nach 5 Stunden noch nicht gekeimt, Bacillus ruminatus: Sporen gekeimt). — Entsprechend verhielt sich auch die Sporenbildung. Bacillus oxalaticus-Kulturen zeigten bei

37⁰ nach 24 Stunden reichlich Sporen und Sporangien, in Bacillus ruminatus-Kulturen fand sich beides noch nicht.

Ich gebe jetzt eine Gegenüberstellung der wichtigsten diagnostischen Merkmale:

	Bac. oxalaticus.	Bac. ruminatus.
Sporen.	ohne besondere Hülle	mit membranartiger Hülle
	mittlere Größe: 1,2 × 0,8 μ	Größe: 1,5—1,7 × 0,8—1,1 μ
Dicke der Keimstäbchen.	1,0—1,2 μ	1,39—1,5 μ
Oidien aus 8 Stunden alten Dextroseagar-Kulturen.	relativ wenig Fett	reichlich Fett
Begeißelung.	peritrich	ebenso
Art der Keimung.	polar	ebenso
Zeit von der Sporenimpfung bis zum Eintritt der Keimung bei 28⁰.	6 Stunden	ebenso

Wachstum in verschiedenen Nährlösungen.

0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ	0	I	II	III	IV	V	Vα	Vβ
1	3	3	2	0	3	2	1	4	4	3	0-1	1	3	4	2
Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI	Vγ	Vδ	VI	VII	VIII	IX	X	XI
2	2	2	3	0	3	4	0	2	2	2	3	0	1	3	0

	Bac. oxalaticus.	Bac. ruminatus.
Veränderung der neutralen Reaktion des Substrates.	Säurebildung	ebenso
4 Wochen nach der Impfung werden zur Neutralisation von 50 ccm Nährlösung verwandt:	bei Benutzung von Nährlösung VII 1. 5,1 ccm 2. 7,3 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge	bei Benutzung von Nährlösung I 5 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge
Diastasebildung.	findet statt	ebenso
Gelatine.	wird verflüssigt	ebenso.
Sporentötungszeit bei 100⁰.	1,5—2 Minuten	4—5 Minuten
Sporentötungszeit bei 80⁰.	180—210 Minuten	9—10 Stunden
Sauerstoffminimum der Sporenkeimung.	4—10 mg im Liter	ebenso
Sauerstoffminimum der Sporenbildung.	30—70 mg im Liter	ebenso
Temperaturmaximum der Sporenkeimung.	45—47⁰	47—50⁰
Temperaturmaximum der Sporenbildung.	39—41⁰	41—45⁰
Temperaturoptimum der Sporenkeimung.	zwischen 35 und 39⁰, etwa bei 37⁰	zwischen 35 und 37⁰

Die angegebenen übereinstimmenden oder nahezu übereinstimmenden Merkmale (Sporengröße, Art der Keimung, Wachstum in verschiedenen Nährlösungen, Säurebildung, Diastasebilduug, Gelatineverflüssigung, Sauerstoffminimum der Sporenkeimung und Sporenbildung) weisen auf eine nahe Verwandtschaft hin, die Verschiedenheiten (Morphologie der Sporen, Sporentötungszeit, Temperaturmaximum der Sporenkeimung und Sporenbildung, Temperaturoptimum der Sporenkeimung und Sporenbildung) fordern, die beiden Organismen als 2 besondere Spezies aufzufassen. Wir glauben nicht, daß eine Untersuchung der Variationsbreite beider Formen zu Resultaten führen würde, welche eine Vereinigung der beiden Spezies zu einer erlauben würden, denn die Sporenhülle ist eine so charakteristische Eigentümlichkeit von Bacillus ruminatus, daß wir nicht annehmen, daß sie bei einer Variante gänzlich fehlen würde.

II.

Vergleichende Untersuchungen über Spirillum rubrum Esmarch und Spirillum volutans Kutscher.

Herr Prof. A. Meyer hielt es für notwendig, daß einmal eine etwas eingehendere Vergleichung der Eigenschaften zweier analoger Formen der farblosen Bakterien und der Purpurbakterien durchgeführt werde, um die Frage etwas exakter zu entscheiden, ob man berechtigt sei, die beiden Gruppen als nahe verwandt zu betrachten. — Bei der Durchsicht der Literatur über die Purpurbakterien erkennt man leicht, daß hier bezüglich der Spezies noch ungemein große Unsicherheit herrscht. Ein Grund hierfür ist der, daß sämtliche bisher beschriebene Purpurbakterien in der Kultur keine Sporen bilden, die morphologische Beschreibung gibt deshalb nur wenige Anhaltspunkte zur Wiedererkennung. Die Purpurbakterien physiologisch genügend zu charakterisieren, ist bisher kaum versucht. Dem stand vor allem der Umstand entgegen, daß Reinkulturen nicht gelangen. Leider macht aber auch Molisch (1907, p. 14—16), der 3 Reinkulturen in Händen hatte (Spirillum rubrum Esmarch, Rhodobacillus palustris Molisch, Rhodobacterium capsulatum Molisch) keinen deratigen Versuch.

Außer der anzustellenden Vergleichung mußte es also mein Bestreben sein, eine etwas bessere Beschreibung einer Purpurbakterienspezies zu liefern.

Versuche, nach der von Molisch (1907, p. 9) angegebenen Methode Reinkulturen zu erhalten, schlugen fehl, andere konnte ich in der mir zur Verfügung stehenden Zeit nicht mehr anstellen. Zu den Reinzüchtungsversuchen waren natürlich Rohkulturen Vorbedingung, ich verschaffte mir dieselben, indem ich Heu in Teichwasser, dem etwas Schlamm zugesetzt war, faulen ließ. Hierbei zeigte es sich, daß auch im Dunkeln, wie schon Manabu Miyoshi (1897, p. 159) angegeben hat, Purpurbakterien aufkommen. In einigen Fällen entstanden in belichteten Gefäßen, die mit Heu gefüllt waren, Ansammlungen roter Bakterien an der dem Sonnenlichte abgewandten Seite. Molisch (1907, p. 70) gibt für seine Reinkulturen an, daß in den meisten Kulturgefäßen der Bodensatz sich an der vom Fenster abgewendeten Seite aufspeichere, er meint, das wäre desbalb der Fall, weil durch die Krümmung der Gefäßwände die Lichtstrahlen nach der Zimmerseite konvergierend gemacht würden.

Nach den mitgeteilten Erfahrungen scheint die günstige Wirkung des Lichtes wohl in erster Linie auf Erwärmung zurückzuführen zu sein.

Von den vorher erwähnten bereits existierenden Reinkulturen war mir nur das Spirillum rubrum Esmarch zugänglich, das ich mir von Král verschaffte. Die beiden von Molisch reingezüchteten Spezies konnte ich weder von Molisch noch von Král, an den mich ersterer verwies, erhalten.

Ich beschränkte mich also auf die Beschreibung des Spirillum rubrum Esmarch und verglich mit diesem ein farbloses Spirillum, das das Institut von Herrn Prof. Heim-Erlangen mit der Bezeichnung Spirillum volutans erhielt.

A. Spirillum rubrum Esmarch.

Spirillum rubrum wurde 1887 von Esmarch (1887, p. 225) aus einer toten Maus isoliert und zwar als erstes rein kultiviertes Spirillum, gleichkeit zu den Purpurbakterien wurde von Engelmann (1888, p. 661) zeitig als erster Vertreter aus der Gruppe der Purpurbakterien. Die Zugehörigzuerst erkannt. Derselbe Forscher (1888, p. 667) gibt auch an, daß Spirillum rubrum schwefelfrei sei, Molisch (1907, p. 26) schreibt sich also mit Unrecht die Entdeckung schwefelfreier Formen zu.

Von diagnostischen Merkmalen teilt Esmarch in Bezug auf das Verhalten in und auf verschiedenen Substraten mit, daß Spirillum rubrum Bouillon trübe und hier im Gegensatz zur Gelatinekultur, wo sich nur Zellen von 1—3 Schraubenwindungen fänden, Oidien von 30 bis über 50 Windungen bilde. Nur die kurzen Spirillen zeigten hier lebhafte Bewegung, die längeren wären entweder ganz bewegungslos oder bewegten sich träge. Auf schrägerstarrter Agar- oder Blutserumfläche bilden sich nach Esmarch anfangs weißgraue, später in dickeren Schichten rosarote, ziemlich scharfrandige Kolonien mit feuchtglänzender Oberfläche, die sich aber nur wenig über den Bereich des Impfstriches hinaus verbreiten. Esmarch erklärt eine Temperatur von etwa 37° als die beste. Bei Eisschranktemperatur gehalten zeigten die Spirillen 2 Monate hindurch lebhafte Beweglichkeit. Höhere Temperatur wurde nicht ertragen. bei 42° waren die Spirillen bereits nach 24 Stunden bewegungslos und, wie Übertragungsversuche in andere Nährmedien bewiesen, abgestorben. — Eine Verflüssigung der Gelatine findet nach Esmarch nicht statt. —

Lehmann und Neumann (1907, p. 496) geben folgende Diagnose: „Zierliche mehr oder weniger gestreckte oder korkzieherartig gewundene Fäden oft bis 16 μ, im Mittel 1—3 ,2 μ lang, 0,6—0,8 μ breit. Auf der Gelatineplatte anfangs rundliche, fast glattrandige Kolonien, welche später gewöhnlich konzentrische Ringe mit gelbgrauem Mittelpunkt erhalten. Die Randzone pflegt grünlich oder rötlich zu erscheinen. Der Gelatine- und Agarstich wächst unterhalb der Oberfläche spindel- bis walzenförmig aus, färbt sich anfangs graugelb, später rostbraun-rötlich. Auf dem Agarstrich sehr spärliches Oberflächenwachstum. Bouillonkultur wird schwach getrübt, Gelatine nicht verflüssigt, weder Gas- noch $H^{2}S$-Entwicklung. Indol in Spuren."

Migulas (1900, p. 1027) Diagnose lautet: „Schraubenförmig gewundene Zellen von 1—1,2 μ Dicke und sehr verschiedener Länge, oft prachtvolle bis 100 μ lange Schrauben bildend, namentlich bei 37° in Bouillon. Beide Pole besitzen Büschel von zahlreichen weitbogig gekrümmten Geißeln. Auf Gelatineplatten entstehen sehr langsam wachsend Kolonien von grauer Farbe mit einem leichten Stich ins Rötliche, körnig, ziemlich glattrandig, später werden die in der Gelatine eingeschlossenen Kolonien weinrot. In Gelatinestichkulturen entsteht an der Oberfläche eine nach und nach dick werdende, aber wenig ausgebreitete graue Auflagerung, die später gewöhnlich stellenweise schmutzigrot wird; im Stichkanal entsteht von Anfang an ein tief weinroter Faden bis zum Grunde des Gläschens. Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf schrägem Agar entsteht ein nicht bedeutender grauer, später hin und wieder rötlich gefärbter Belag und eine kräftige Trübung des Kondenswassers, in dem sich ein allmählich rot werdender Bodensatz abscheidet. In Bouillon entsteht Trübung und Abscheidung eines grauroten Bodensatzes. Auch in Milch gedeiht es. Auf Kartoffeln entstehen graurote, hanfkorngroße Kolonien. Die eigentümliche Erscheinung, daß der Farbstoff sich gar nicht oder nur mangelhaft an der Oberfläche der Nährsubstrate bildet, ist nicht ausschließlich aus der Einwirkung des atmosphärischen Sauerstoffes zu erklären. Nach meinen Versuchen gedeiht Spirillum rubrum auf schrägem Agar auch in Wasserstoffatmosphäre vorzüglich, bildet aber ebenfalls keinen Farbstoff.“

Auch Günther (1906, p. 858) gibt eine Diagnose von Spirillum rubrum, seine Angaben decken sich mit denen von Esmarch.

Meine eigenen Untersuchungen über Spirillum rubrum ergaben folgendes:

1. Morphologie der Oidien.

Die wohl sicher durch die lange Kultur geschwächten Oidien von Spirillum rubrum haben nach meinen Messungen eine Dicke von 0,5—0,7 μ und eine Länge von 1,5—30 μ. So dicke (1—1,2) und lange (bis 100 μ) Oidien wie Migula sie beschreibt, habe ich niemals zu Gesicht bekommen.

Die Windungen können steil und flach sein, auch gänzlich fehlen (F. 79).

Querwände habe ich niemals gefunden, auch nicht nach verschiedenen Färbungen (Methylenblau 1 + 10, Fuchsin 1 + 10, Jodjodkalium, Chlorzinkjod) was vielleicht auf die Kleinheit der Objekte zurückzuführen sein könnte.

Die Oidien sind nicht plasmolysierbar, weder aus jungen noch aus alten Kulturen; auch durch Alkoholbehandlung nach Färbung mit Methylenblau 1 + 10 sieht man keine Schrumpfung des Protoplasten. 2-proz. Phenollösung, 10-proz. Kalilauge rufen ebenfalls keine Schrumpfung hervor.

Durch Fuchsin 1 + 10, Methylenblau 1 + 10, Jodjodkalium-Methylenblau ließ sich die Membran nicht färben, wohl aber durch Karbolfuchsin (Vergl. Ellis 1903. p. 92). Durch Kobolfuchsin werden auch zwischen vielen Zellen feine Stränge sichtbar gemacht, wahrscheinlich sind es miteinanderverflochtene Geißeln oder möglicherweise auch Reste von Verbindungsbrücken, die durch die Teilung entstanden sind. (F. 80).

Bei Spirillum rubrum fand ich als Höchstzahl 4 endständige Geißeln, meist waren es weniger. Die Geißeln der langen Oidien sind nicht länger und kräftiger als die der kurzen, dementsprechend ist es ja auch die Bewegung der langen Individuen langsamer und plumper (F. 81). Löffler (1889. p. 209. Taf. II) bildete schon eine lange Spirale von Sp. rubrum ab mit einem Geißelbüschel an jedem Ende, die Zahl der Komponenten läßt sich nicht erkennen. Lehmann und Neumann bilden Spirillen mit bis zu 3 Geißeln ab (1907. I Taf. 62).

Der Teilungsmodus ließ sich bei so kleinen Objekten nicht sicher feststellen, so viel man sehen kann entspricht er dem bei Spirillum volutans.

Als Reservestoff wurde Volutin gefunden, das in fast allen Zellen reichlich vorhanden ist. Fett ist, wenn es vorkommt, was nach Esmarchs und meinen Beobachtungen nicht ausgeschlossen ist, nur in so kleinen Tröpfchen vorhanden, daß es durch Färbung mit Sudan nicht nachweisbar war. Esmarch (1887. p. 229) schreibt von Oidien aus alten Kulturen: „Schon im ungefärbten Deckglaspräparat fällt etwa die Hälfte oder ⅓ der kurzen Spirillen auf durch helle, mattglänzende Stellen im Innern derselben, meist 3 oder 4 nebeneinander. Sehr viel deutlicher differenzieren sich diese hellen Flecke von dem Leib der Spirillen wenn man letztere färbt in der gewöhnlichen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Weise. Die hellen Stellen bleiben vollkommen ungefärbt und liegen wie Erbsen in einer geöffneten Schote nebeneinander.“ Esmarch hält diese hellen Stellen für Sporen, wahrscheinlich handelt es sich aber um Fett.

Ein Schleimhof umgibt die Spirillen nicht. Setzt man zu den in Wasser liegenden Oidien Tusche zu, so treten die Rußpartikelchen bis unmittelbar an die Oberfläche heran. Auch in alten Kulturen und bei unbeweglichen Oidien ist kein Schleim nachzuweisen.

Reichenbach (1901. p. 556) teilt für Spirillum rubrum das Vorkommen von Verzweigungen mit, das er namentlich in älteren Bouillonkulturen beobachtete; unter den Kulturbedingungen, unter denen ich Spirillum rubrum hielt, sind mir derartige Gebilde nicht zu Gesicht gekommen.

Spirillum rubrum (48 Stunden altes Material von Agar ohne Dextrose) nach Gram gefärbt, entfärbt sich nach 10 Minuten langem Verweilen in absolutem Alkohol fast gänzlich. Der noch vorhandene Farbenton entspricht dem auf der F. 4 in Neides Arbeit über die Gramfärbung (Neide 1903. p. 657).

2. Wachstum auf und in verschiedenen Substraten.

Wachstum auf verschiedenen festen Substraten.

Im Gegensatz zu Spirillum volutans, das die Kultur auf einer Reihe von festen Substraten nicht verträgt, ohne zu degenerieren, konnte ich Spirillum rubrum auf derartigen Nährböden längere Zeit kultivieren, ohne irgend eine Schädigung in Bezug auf normale Wuchsform, Beweglichkeit, Intensität des Wachstums, Reservestoffspeicherung und Farbstoffbildung zu bemerken. Auf Dextroseagar, Agar ohne Dextrose, ⅓ Dextroseagar wuchs der Organismus nach häufigen Umimpfungen in derselben Weise, wie nach der ersten Impfung, nur die Schnelligkeit des Wachstums hatte etwas zugenommen. Da die Farbstoffbildung auf Dextroseagar meist etwas zu wünschen übrig ließ, züchtete ich Spirillum rubrum auf Agar ohne Dextrose oder ⅓ Dextroseagar fort.

Um die Intensität des Wachstums und der Farbstoffbildung am besten vergleichen zu können, impfte ich Spirillum rubrum immer in möglichst feinem Strich.

Folgendermaßen verhält sich Spirillum rubrum im Verlaufe der Zeit auf Agar ohne Dextrose bei einer Temperatur von 28°:

1. Tag nach der Impfung. Es ist ein feiner Strich zu sehen, der völlig farblos erscheint, — Striche, etwa von gleicher Dicke mit intensiv gefärbtem Material künstlich hergestellt, erscheinen deutlich gefärbt, das Farbloserscheinen des Striches rührt also nicht von einer zu geringen Menge relativ gut gefärbten Materials her. Es ist wohl überhaupt noch keine Spur Farbstoff gebildet, auf weißes Papier gestrichenes Material erscheint völlig ungefärbt. — Mikroskopisches Aussehen: Vorherrschend sind lange Oidien, meist mit ziemlich flachen Windungen, daneben kommen auch alle anderen Oidienformen vor. Die langen Oidien sind teils beweglich, teils nicht, die mittellangen und kurzen sind fast alle beweglich.

2. Tag. Der Strich ist dicker geworden, in der Nähe des Kondenswassers hat er eine Ausdehnung von etwa 1 mm erreicht, weiter oben ist das Wachstum mehr in die Höhe als in die Breite erfolgt. Die Kolonie hat ein perlgraues homogenes Aussehen, Rotfärbung ist noch nicht wahrzunehmen. Mikroskopisches Aussehen: Meist lange und mittellange Oidien, daneben auch kurze. Die langen Oidien meist unbeweglich, mittellange und kurze meist beweglich.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

4. Tag. Ausdehnung des Striches etwa 1,5 mm, in der Nähe des Kondenswassers breiter, auch die Höhe der Kolonie hat zugenommen. Im Innern der Kolonie schwacher roter Kern. Mikroskopisches Aussehen: Vorherrschend mittellange Oidien daneben alle anderen Formen, die langen Oidien unbeweglich.

7. Tag. Strichbreite 3 mm. Rotfärbung schwach, aber stärker als bei der 4 Tage alten Kultur. Vorherrschend kurze Oidien, daneben mittellange, wenig lange. Nur die kurzen Oidien sind zum Teil beweglich.

9, 10, 14 Tage alte Kulturen zeigen makroskopisch den 7 Tage alten gegenüber keine Unterschiede. Auch mikroskopisch sind keine weiteren Differenzen vorhanden, als daß die Beweglichkeit noch etwas mehr abgenommen hat.

Mit dem Älterwerden der Kultur neigen also die Oidien dazu, kurz und bewegungslos zu werden.

Es lag mir daran, ein Substrat zu finden, auf dem Spirillum rubrum recht intensiv seinen Farbstoff bildet. Ich habe daraufhin eine Anzahl von Nährböden untersucht, wobei ich auch das mikroskopische Bild in Betracht zog. Dabei konnte ich feststellen, daß außer der Farbstoffbildung die Beweglichkeit, die Neigung zur spiraligen Drehung und die Längenverhältnisse beeinflußt werden, daß dagegen die Dickenverhältnisse keine wesentlichen Verschiedenheiten zeigen. Über die Intensität des Wachstums und der Farbstoffbildung habe ich später zu berichten, hier sei nur das mikroskopische Aussehen am 4. Tage nach der Impfung berücksichtigt. Vorauszuschicken habe ich, daß auf allen Substraten kurze, mittellange und lange Oidien vorhanden waren. Die genannten Oidien waren die an Zahl bedeutend vorherrschenden. Unter kurzen Oidien verstehe ich etwa bis zu 2 μ lange, unter mittellangen solche von ungefähr 2—8 μ, über 8 μ lange Oidien bezeichne ich als lang.

Dextroseagar: Meist mittellange und kurze Oidien. Windungen ziemlich flach. Beweglichkeit der mittellangen und kurzen Formen mäßig, die langen fast sämtlich unbeweglich. Im Kondenswasser fast ausschließlich lange Oidien.

Agar ohne Dextrose: Wie Dextroseagar. Beweglichkeit der kurzen und mittellangen Oidien besser.

⅓ Dextroseagar: Wie Agar ohne Dextrose.

Molisch-Agar (Molisch 1907. p. 11. — 1000 g Flußwasser, 18 g Agar, 5 g Pepton, 2,5 g Dextrin, 2,5 g Glyzerin). Meist mittellange und kurze Oidien. Beweglichkeit gut. Windungen nicht sehr steil.

Kaninchenmistagar 10 + 100: Meist kurze Oidien, Windungen teils flach, teils steil. Lebhafte Beweglichkeit,

Maisagar: Alle Oidienlängen in ziemlich gleichmäßiger Länge. Windungen mittelmäßig steil. Beweglichkeit schwach.

Nährlösung I + 2 Proz. Agar: Meist mittellange und kurze Oidien. Windungen flach. Beweglichkeit schwach.

Nährlösung X + 2 Proz. Agar: Meist lange und mittellange Oidien. Die meisten Oidien zeigen keine Spur von spiraliger Drehung. Beweglichkeit mäßig.

Nährlösung 0 + 2 Proz. Agar: Alle Oidienlängen in ziemlich gleichmäßiger Menge. Windungen flach. Beweglichkeit sehr gut.

Spirillenagar: Meist lange Oidien-Windungen flach. Nur die mittellangen und kurzen Oidien gut beweglich.

Peptonagar (0,3 g Pepton, 100 ccm Wasser, 2 g Agar): Meist lange Oidien. Windungen steil. Beweglichkeit gut.

Kartoffelpreßsaftagar: (Kartoffelpreßsaft + 2 Proz. Agar). Mittellange und kurze Formen. Windungen steil. Lebhafte Beweglichkeit.

Heydenagar: Meist mittellange und kurze Oidien. Windungen mittelmäßig steil. Beweglichkeit mäßig.

Auf der Möhre konnte ich für Spirillum rubrum kein Wachstum feststellen.

Auf der Kartoffel wächst Spirillum rubrum mäßig gut, wenn das Substrat im Dampftopfe sterilisiert wurde, im Autoklaven sterilisierte Kartoffelschnitten sind kaum brauchbar. Das Wachstum auf der Kartoffelschnitte fand ich meist besser, als Esmarch es angibt, die Kolonien wurden meist größer als hanfkorngroß, gelegentlich erreichten sie einen Durchmesser von 1 Zentimeter, nur wenn das Substrat recht trocken war blieben sie sehr klein. In einem Falle hatte eine Kolonie am zweiten Tage nach der punktförmigen Impfung einen Durchmesser von 5 mm erreicht. Zum größten Teil wurde die Kolonie aus langen, teilweise beweglichen Spirillen zusammengesetzt, die kurzen und mittellangen waren wie gewöhnlich am besten beweglich. Am 9. Tage nach der Impfung erwies sich die Kolonie, die sich makroskopisch nicht sehr verändert hatte, als aus mittellangen, meist unbeweglichen, Oidien zusammengesetzt.

Wachstum in verschiedenen Nährlösungen.

Die Beweglichkeit pflegt in flüssigen Substraten bedeutend stärker zu sein und mit dem Alter der Kultur weniger schnell abzunehmen als auf festen. Die Oidien zeigen in flüssigen Substraten weniger Verschiedenheiten in Bezug auf ihre Länge, es wurden hier stets vorherrschend mittellange gefunden. Ich habe eine größere Zahl von Nährlösungen daraufhin untersucht ob sie für Spirillum rubrum brauchbar sind, wobei ich festzustellen suchte, ob im zerstreuten Tageslichte besseres Wachstum als im Dunkeln erfolgt, resp. ob es Substrate gibt, die Spirillum rubrum im Lichte Wachstum gestatten, während sie es im Dunkeln nicht tun. Unter den Substraten befinden sich auch solche, die Molisch (1907. p. 67 u. 68) als ganz besonders geeignet für die Purpurbakterien bezeichnet (Glycerin-Pepton, Inulin-Pepton).

In der Tabelle bedeutet: 0 kein, 1 sehr schwaches, 2 mäßiges, 3 gutes, 4 sehr gutes Wachstum:

Nährlösung:	Bouillon	Kartoffelpreßsaft	Kaninchenmistabkochung.
Wachstumsintensität:	4	3	1

Nährlösung:	Harnstoff 0,5% Rohrzuck. 0,5% min. Nährl. 100	Glycerin 1 Pepton 1 min. Nährl. 100	Pepton 1 Inulin 0,5 min. Nährl. 100
Wachstumsintensität:	0	1	1

Nährlösung:	Pepton 1 Rohrzucker 0,5 min. Nährl. 100	Asparagin 1 Glycerin 1 min. Nährl. 100
Wachstumsintensität:	1	0

Nährlösung:	0	1	2	3	4	5	5α	5β
Wachstumsintensität:	2	2	0	0	0	0	0	0
Nährlösung:	5γ	5δ	6	7	8	9	10	11
Wachstumsintensität:	0	0	0	0	0	0	2	0.

Da es nicht ausgeschlossen erschien, daß die Nährlösungen 0—11 für Spirillum rubrum zum Teil zu konzentriert waren, untersuchte ich das

Wachstum in denselben auf $\frac{1}{4}$ verdünnten Substraten, mit dem Resultat, daß in den verdünnten Lösungen 0,1, 10 ein entsprechend schwächeres Wachstum stattfand, als in den konzentrierten, daß in den übrigen verdünnten Nährlösungen Spirillum rubrum nicht wuchs. Licht hatte auf das Wachstum in keinem der versuchten Substrate einen günstigen Einfluß. Die Intensität des Wachstums in Pepton-Glycerin und Pepton-Inulin-Nährlösung ist recht schwach gegenüber dem in Bouillon und Kartoffelpreßsaft. Makroskopisch ist in ersteren Lösungen überhaupt nichts zu sehen, während sich in letzteren deutliche Flocken bilden.

3. Physiologische Untersuchungen.

Sauerstoffbedürfnis des Spirillum rubrum.

Lehmann und Neumann äußern sich über das Sauerstoffbedürfnis des Spirillum rubrum: „War anfangs vorwiegend anaërob, gedeiht nach der fortgesetzten Kultur in den bakteriologischen Sammlungen jetzt zuweilen auch gut aërob.“

Wenn ich nach der Stichimpfung auf den Agar H^2Shaltiges Wasser brachte (das ich täglich erneuerte), so blieb jedes Wachstum im Stiche aus. Wie ich feststellte hat sogar ziemlich kräftiges H^2S-Wasser keine schädigende Wirkung auf Spirillum rubrum. Das gute Wachstum sonst im Stiche einerseits und das Ausbleiben des Wachstums unter den angegebenen Bedingungen andrerseits zeigen schon, daß Spirillum rubrum zwar mit geringen Sauerstoffmengen auskommen kann, vollständig ohne Sauerstoff aber nicht existenzfähig ist. Um bei der Feststellung des Sauerstoffminimums und Optimums möglichst genaue Resultate zu erhalten, berücksichtigte ich den im Substrate und im Wasser des Kulturvakuums enthaltenen Sauerstoff. Bei einem Sauerstoffgehalt von unter 10 mg im Liter benutzte ich Kultur röhrchen, deren Agar, nachdem er bei 100° flüssig gemacht war, auf Eis erstarrt war, die Röhrchen wurden in einem Kulturvakuum bei etwa 5 mg Sauerstoff im Literaufbewahrt. Das für das Kulturvakuum benutzte Wasser wurde unmittelbar vor dem Einbringen aufgekocht, um den Sauerstoff möglichst zu entfernen. Ich hielt in einem Exsikkator nicht mehr als 2 Röhrchen, ließ dort, wo nichts anderes angegeben ist, fast täglich Luft zuströmen und brachte dann wieder auf den ursprünglichen Grad der Verdünnung. Die Versuche wurden sämtlich bei einer Temperatur von 28° ausgeführt.

Bei 0,6 mg Sauerstoff im Liter, der mit einer guten Ölpumpe niedrigst erreichbaren Verdünnung, wuchs Spirillum rubrum nicht, wie mehrfach wiederholte und genügend lang ausgedehnte (20 Tage) Versuche lehrten. Bei diesen Versuchen ließ ich keinen frischen Sauerstoff zutreten. Bei normalem Druck zeigte sich nach Beendigung des Versuches kein Wachstum, die Zellen waren also tot.

Bei 1 mg Sauerstoff im Liter war nach strichförmiger Impfung nach 10 Tagen ein etwa 1 mm breiter Streifen von sehr geringer Dicke gewachsen. Das Minimum des Wachstums liegt für Spirillum rubrum also zwischen 0,6 und 1 mg Sauerstoff im Liter.

Das Optimum des Wachstums suchte ich dadurch zu ermitteln, daß ich strichförmig impfte und beobachtete, bei welchem Sauerstoffgehalt nach 4 Tagen der breiteste Strich entstanden war, ich machte aber die Erfahrung, daß stärkeres Wachstum sich mehr in der Strichdicke als in der Strichbreite äußert.

Bei 5, 10, 34 und 68 mg Sauerstoff im Liter zeigte es sich, daß das Wachstum schwächer war als bei gewöhnlichem Atmosphärendruck. Bei 120 mg konnte ich die gleiche Wachstumsintensität feststellen.

Das Optimum des Wachstums beginnt also zwischen 68 und 120 mg und reicht bis zum normalen Luftdruck, wohl kaum darüber hinaus, denn bei 5 Atm. Druck war das Maximum der Sauerstoffspannung schon überschritten.

Änderungen im morphologischen Verhalten der Oidien traten bei den verschiedenen Sauerstoffspannungen nicht ein. Bei 1 mg gewachsene Spirillum rubrum-Oidien erwiesen sich als, von den bei 276 mg (normaler Luftdruck) gezüchteten, morphologisch nicht different.

Temperatur.

Bei 45 und 41° zeigte Spirillum rubrum nach 6 Tagen auf Agar ohne Dextrose kein Wachstum. Die Zellen waren tot, wie das Ausbleiben des Wachstums bei 28° zeigte. Bei 39° war das Spirillum ganz schwach gewachsen, die Ausdehnung der Kolonie in die Breite war bei strichförmiger Impfung etwa ⅓ mm, dabei war sie sehr dünn. — Das Maximum der Temperatur liegt für Spirillum rubrum also zwischen 39 und 41°.

Das Optimum der Temperatur bestimmte ich in derselben Weise wie das Optimum der Sauerstoffspannung. Ich verglich die Kulturen miteinander nach einer Wachstumsdauer von 4 Tagen. Bei 37° ist das Wachstum etwas schwächer als bei 28°, bei 35° etwa ebenso kräftig, bei 33° ein wenig stärker. Das Wachstumsoptimum liegt also zwischen 28 und 35°, etwa bei 33°. Bei 9° war die Kolonie innerhalb von 4 Wochen etwa ½ mm breit geworden (strichförmige Impfung), dabei war sie ziemlich dick; die Oidien waren zum größten Teil beweglich. — Das Temperaturminimum liegt also unter 9°.

Alkalibildung.

Spirillum rubrum bildet in Nährlösung X und in Bouillon relativ reichlich Alkali. Nach einer Wachstumsdauer von 4 Wochen wurden 34,0 ccm $^1/_{10}$ Normalsalzsäure verbraucht, um 50 ccm Nährlösung X zu neutralisiere nund 35,2 $^1/_{10}$ Normalsalzsäure, um die gleiche Menge Bouillon zu neutralisieren. (Abgerechnet ist die Menge Normalsalzsäure, die zur Neutralisation der gleichen Quantität nicht geimpfter Nährlösung nötig war.) Schwache alkalische Reaktion ließ sich schon nach zweitägigem Wachstum in den Substraten, die vorher neutral gemacht waren, nachweisen.

Gelatine.

Spirillum rubrum verflüssigte Dextrosegelatine, auf dem es gut wuchs, nicht.

Gas.

Gas wird von Spirillum rubrum in Bouillon und in Nährlösung X weder im Licht noch im Dunkeln gebildet.

Diastase.

Spirillum rubrum bildet keine Diastase. Untersucht wurde der Organismus in Bezug auf dieses Verhalten nach der von Beijerinck und der von Gottheil angegebenen Methode. (S. Bacillus oxalaticus).

Salpetersäurereduktion.

Reduktion von Salpetersäure wird von Spirillum rubrum nicht durchgeführt. Ich ließ den Organismus in einer Lösung wachsen, die zu

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

$^2/_3$ aus Nährlösung X, zu $^1/_3$ aus Nährlösung VII bestand. (Untersuchungsmethode s. Bacillus oxalaticus).

Widerstandsfähigkeit gegen supramaximale Temperatur.

Schon Esmarch hebt die geringe Widerstandsfähigkeit des Spirillum rubrum gegen hohe Temperatur hervor. (Zellen 24 Stunden bei 42° gehalten — tot). Ich habe versucht wie lange der Organismus einer Temperatur von 55° widersteht, wobei ich in der Weise verfuhr, daß ich zunächst eine Anzahl von Röhrchen strichförmig impfte und 24 Stunden bei 28° hielt, dann diese Kulturen nebst einigen 4 Tage alten in einen, auf 55° erwärmten, Thermostaten stellte. Von Zeit zu Zeit brachte ich je ein Röhrchen in die Temperatur von 28°, nachdem ich es mit dem Material der älteren Kulturen nochmals geimpft hatte, außerdem impfte ich noch je ein steriles Röhrchen. Es zeigte sich, daß die Kulturen nach einer halben Stunde noch lebten, nach 1 Stunde schon abgestorben waren.

Verhalten in Schwefelwasserstoff-Wasser.

Ich habe versucht, ob Spirillum rubrum nicht durch Darbietung von Schwefelwasserstoff in verschiedenen Nährlösungen dazu gebracht werden kann, Schwefel zu speichern. — Ich fügte zu den Nährlösungen (Bouillon, Nährlösung X, Glycerin (1 Proz.)-Pepton (1 Proz.)-Nährlösung, Inulin (0,5 Proz.)-Pepton (1 Proz.)-Nährlösung, Rohrzucker (0,5 Proz.)-Pepton (1 Proz.)-Nährlösung, Kaninchenmistabkochung 5 + 100, Kartoffelabkochung 5 + 100) nachdem der Organismus 2 Tage darin gewachsen war, 5—20 Tropfen steriles H_2S-Wasser. Nach 18 Stunden zeigten die verschiedenen Substrate, die durch das Spirillum nur wenig getrübt waren, starke Trübung durch den frei gewordenen Schwefel. Die Oidien waren relativ gut beweglich und hatten ein eigenartiges Aussehen. Sie waren mit Schwefelkugeln beladen, die in ziemlich regelmäßigen Abständen von einander lagen, meist etwa den Durchmesser der Zellen besaßen, aber auch größer und kleiner waren. Daß eine gewisse Zahl dieser Kugeln außerhalb an den Oidien haftete, war deutlich zu sehen, für einen andern Teil war das nicht so ohne weiteres zu entscheiden. (F. 82.) Die Erscheinungen beim Heben und Senken des Tubus sprachen mehr dafür, daß die Körnchen außerhalb lagen. Die Schwefelkörnchen waren nach mehreren Tagen noch bei den Oidien festzustellen, ihre Zahl und ihre Größenverhältnisse hatten sich nicht geändert. Ich orientierte mich darüber wie Spirillum volutans, in gleicher Weise behandelt, aussah. Da die Schwefelkörnchen hier meistens bedeutend kleiner waren als der Durchmesser der Zellen, so machte es eher noch als bei Spirillum rubrum den Eindruck, als ob die Körnchen innerhalb lägen, was doch bestimmt nicht der Fall war. — Ich konnte keinen Anhalt dafür finden, daß Spirillum rubrum Schwefelkörnchen aus H^2S-Wasser in seinem Protoplasten bildet.

Beweglichkeit bei Sauerstoffabschluß.

Ich schloß, um zu erfahren, wie lange Spirillum rubrum bei Sauerstoffabschluß beweglich bleibt, das Substrat mit dem Organismus unter Deckglas mit Vaseline ab und brachte solche Präparate in einen möglichst stark evakuierten Exsikkator, um sicher zu sein, daß kein Sauerstoff eindrang. Die Dauer der Beweglichkeit hängt, wie ich mich überzeugt habe, in erster Linie von der Menge der Spirillen ab. Ich sorgte daher dafür, daß ziemlich gleichmäßige Mengen verwandt wurden. — Von Agar ohne Dextrose stammende, ca. einen Tag nach der Impfung entnommene Oidien, in dem Kondenswasser des Substrates untersucht, blieben 1—2 Stunden beweglich, aus Bouillon stammende Zellen 18—24 Stunden. Letztere waren von Anfang an lebhafter beweglich. Einen Einfluß des Lichtes auf die Dauer der Beweglichkeit konnte ich nicht feststellen, beleuchtete und im Dunkeln gehaltene Präparate verhielten sich ganz gleich. Waren die Zellen unbeweglich geworden, so konnte ich Beweglichkeit durch Lüften des Deckglases nicht wieder hervorrufen, tot waren jedoch die Zellen nicht alle, was ich durch Überimpfen festgestellt habe.

Schreckbewegung.

Engelmann (1888. p. 661) gibt für Spirillum rubrum an, daß es auf Lichtreize stark reagiere, deutlich die, für Purpurbakterien charakteristische Schreckbewegung zeige. Unter den Bedingungen, unter denen ich den Organismus kultivierte, konnte ich die Erscheinung niemals mit Sicherheit feststellen. In Fällen, wo einzelne Oidien anscheinend reagierten, war ich mir darüber unklar, ob der Lichtreiz wirklich dafür verantwortlich zu machen sei. Die Zellen haben die Eigentümlichkeit, sehr oft ihre Bewegungsrichtung plötzlich umzukehren, ohne äußeren Einfluß.

Herr Prof. Meyer hat Spirillum rubrum eingehender in dieser Richtung untersucht, namentlich daraufhin, ob es in der Lichtfalle zu fangen ist und wie es sich dem Spektrum gegenüber verhält. Benutzt wurde Material aus 2 Tage alten Bouillonkulturen, die teilweise vor dem Versuch diffusem Lichte ausgesetzt waren. Herr Prof. Meyer hält es nicht für ausgeschlossen, daß einige von den Oidien ganz schwach reizbar waren, daß eine schwache Ansammlung in der Lichtfalle zu konstatieren war, im Mikrospektrum schien in einem Falle eine schwache Ansammlung im Ultrarot, in einem anderen Falle eine solche im Gelb zu sein. Wenn der Organismus überhaupt die Erscheinung der Schreckbewegung zeigte, so tat er das in so schwachem Maße, daß das Vorhandensein dieser Reizbarkeit mit Sicherheit nicht festzustellen war. Es wurden gleichzeitig Versuche mit andern Purpurbakterien gemacht, welche die Schreckbewegung deutlich aufwiesen.

4. Bedingungen der Farbstoffbildung.

In der Literatur befinden sich einige kurze Versuchsangaben über die Bedingungen, unter denen der Farbstoff gebildet wird. Das wenige, was Lehmann und Neumann und Migula darüber sagen, ist in den Diagnosen enthalten, die ich bereits mitgeteilt habe, am meisten beschäftigt sich noch Esmarch mit dieser Frage, er schreibt: „Wie schon vorhin erwähnt, waren die kleinen Kolonien (Gelatinerollen) anfangs von grauer und blaßroter Farbe, mit etwas körnigem Grunde und ziemlich glattem Rande, nach und nach aber trat deutlich eine weinrote Färbung auf, besonders da, wo die Kolonien mehr in der Tiefe als nahe der Oberfläche der Gelatine lagen; viel deutlicher zeigte sich diese Rotfärbung, wenn man eine Reagenzglasstichkultur in gewöhnlicher Weise anlegte. Hier wuchsen die Spirillen im Bereiche des ganzen Impfstriches zu dichtgedrängten, runden Kolonien aus, die aber von Anfang an sämtlich eine schöne weinrote Färbung zeigten und nur an dem Beginn des Stiches, wo der Sauerstoff der Luft einwirken konnte, wurde auch hier keine Farbe gebildet. Es ist dies ein eigentümliches Verhalten, welches meines Wissens einen Gegensatz zu sämtlichen bislang beobachteten farbstoffbildenden Mikroorganismen bildet; alle diese sind mehr oder weniger zur Produktion ihrer Farbe auf die Berührung mit der Luft angewiesen, das Spirillum produziert eine solche nur, wenn die Luft ganz oder doch fast vollständig von der Kolonie abgeschlossen ist. In der Tat scheint ein absoluter Luftabschluß nicht nötig zu sein, da auch auf der Oberfläche von festen Nährböden die Kolonien nach einiger Zeit schön rot werden; ich erkläre mir dieses dadurch, daß die äußeren Schichten der Kultur die Luft von dem Zentrum genügend absperren und die Bakterien daselbst nun unter ähnlichen Sauerstoffverhältnissen wachsen wie in der Tiefe der Gelatine". Von Interesse in Bezug auf die Farbstoffbildung ist die Erwähnung von Esmarchs, daß sein Spirillum auf Kartoffel tiefrote Kolonien bilde.

Von den Faktoren, denen ein Einfluß auf die Farbstoffbildung zugeschrieben werden kann, untersuchte ich zunächst die Substrate. Ich fand, daß die Farbstoffbildung stark durch das Substrat beeinflußt wird und, daß sie auf ein und demselben nicht unerheblich schwankt. In dieser Beziehung gilt für Spirillum rubrum dasselbe was Lehmann und Neumann (1907, p. 360) für Bacillus prodigiosus angeben: „Es sei gleich hier bemerkt, daß auch ohne erkennbare Ursache die Farbstoffbildung des Bact. prodigiosum oft stark schwankt. Wie oft kann man sehen, daß von 20 gleichzeitig und von den gleichen Originalen auf dem gleichen Nährboden angelegten Kulturen manche stark, andere schwach Farbstoff bilden. Auch auf Platten erhält man stets stärker und schwächer gefärbte Kulturen nebeneinander". — Im allgemeinen konnte ich feststellen, daß auf festen Substraten der Farbstoff besser gebildet wird als in flüssigen, das zeigt sich z. B. in Kulturröhrchen, in denen die Zellmassen auf dem Agar kräftiger gefärbt sind als die im Kondenswasser, ferner bemerkt man den Einfluß des Wassergehaltes, wenn man Kartoffeln als Nährsubstrat benutzt. Auf der Kartoffel ist von allen untersuchten Substraten die Farbstoffbildung am besten, sind die Kartoffelschnitten aber recht feucht, so läßt die Farbstoffbildung auch hier zu wünschen übrig.

Um festzustellen, welchen Einfluß die verschiedenen Substrate auf die Farbstoffbildung ausüben, wurden stets mehrere Röhrchen des gleichen Substrates benutzt, da ja, wie angegeben, die Farbstoffbildung ohne ersichtlichen Grund schwanken kann. — Es fand sich, daß sich die Intensität des Wachstums und der Farbstoffbildung nicht proportional verhalten. — Die Beobachtungen wurden am 4. Tag nach der Impfung gemacht. — Was die Wachstumsintensität anbelangt, so verstehe ich unter 0 Ausbleiben jeglicher Entwicklung, unter 1 schwache Entwicklung, (die erst mehrere Tage nach der Impfung deutlich wird) unter 2 am Tage nach der Impfung eben deutliches Wachstum, unter 3 am Tage nach der Impfung schon relativ kräftiges Wachstum. — In Bezug auf die Farbstoffbildung verstehe ich unter 0 graues Aussehen der Kolonie, unter 1 eine schwache rosa Färbung, unter 2 deutliche rosa Färbung, unter 3 bräunlich rote Färbung:

Substrat	Wachstumsintensität	Farbstoff
Dextroseagar	233	111
Agar ohne Dextrose	333	112
⅓ Dextroseagar	333	122
Kaninchenmistagar	123	223
Maisagar	233	001
Molisch-Agar	112	122
Nährlösung I + 2 Proz. Agar	122	111
Nährlösung X + 2 Proz. Agar	222	122
Nährlösung 0 + 2 Proz. Agar	122	001

Substrat	Wachstumsintentität	Farbstoff
Spirillenagar	112	012
Peptonagar	011	000
Kartoffelpreßsaftagar	333	333
Heyden-Agar	111	111.

Zur Gewinnung des Farbstoffes in der später zu beschreibenden Weise wurden einerseits Kartoffelkulturen, andrerseits Kartoffelpreßsaftagarkulturen verwandt. Es zeigte sich, daß der abgespülte und abgeschleuderte Belag der ersten Serie intensiv bräunlich rot, der der zweiten hell rosarot war, mithin ist die Farbstoffbildung auf der Kartoffel von allen Substraten weitaus am kräftigsten. Auf den Substraten, auf welchen Farbstoff gebildet wird, tritt derselbe nicht gleich in den jungen Kulturen auf, erst mit dem Älterwerden stellt er sich ein, und zwar im Innern der Kolonie (vgl. Esmarch einerseits und Lehmann und Neumann andrerseits), die Außenschicht bleibt meist farblos.

Winogradsky (1888, p. 53) teilt mit, daß die Wachstumsintensität der Purpurbakterien durch Zusatz von Mangankarbonat, daß ihre Farbstoffbildung durch Zusatz von Schwefeleisen ganz erheblich zunähme. Ich fand Wachstumsintensität und Farbstoffbildung des Spirillum rubrum durch Zusatz von fein gepulvertem Schwefeleisen und Mangankarbonat zu Agar ohne Dextrose nicht gebessert.

Interessant war die Frage, welchen Einfluß die Temperatur auf die Bildung des Farbstoffes ausübt, ob vielleicht ähnliche Verhältnisse vorliegen wie bei Bac. prodigiosus, von dem Lehmann und Neumann (1907, p. 360) berichten: „Im Brutschrank, namentlich aber bei 38—39° ist die Farbstoffbildung gestört, längere Kultur bei hoher Temperatur vermindert die Farbstoffbildung bleibend". Spirillum rubrum zeigt ein anderes Verhalten: Bei 39° der höchsten Temperatur, bei der Wachstum beobachtet wurde, war die Bildung des Farbstoffes nicht sistiert. — Die Temperatur hat auch sonst keinen bemerkbaren Einfluß auf die Farbstoffbildung.

Beziehungen zwischen Sauerstoffspannung und Farbstoffbildung: Die kräftigere Farbstoffbildung, die Esmarch und Migula in Stichkulturen auftreten sahen, könnte darauf schließen lassen, daß bei verminderter Sauerstoffspannung die Farbstoffbildung eine bessere wäre. — Ich kann es bestätigen, daß die Farbstoffbildung im Stiche besser zu sein pflegt, als auf der Agarfläche, aber auch hier hängt sie in erster Linie von dem Substrate ab. In Molisch-Agar und Kaninchenmistagar 10 + 100 war sie bedeutend besser als in Dextroseagar. Die ersten makroskopisch sichtbaren Bakterienmassen erscheinen übrigens im Stiche ebenso wie auf dem Agar nicht rot, wie ja auch Lehmann und Neumann berichten.

Durch die verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen, wie sie zur Feststellung des Sauerstoffminimums und -Optimums benutzt wurden, wird die Farbstoffbildung nicht wesentlich beeinflußt. Auf Kartoffelpreßsaftagar zeigte sich ein kräftig roter Belag, der in der Intensität der Färbung in den untersuchten Fällen nur wenig schwankte. Der viel schwächer gefärbte Belag auf Agar ohne Dextrose verhielt sich ebenso. Der Farbstoff wird bei einem Sauerstoffgehalt von 34, 68, 120 mg nur im Innern der Kolonie gebildet wie bei normalem Druck. Bei 10 mg ist nach 20tägigem Wachstum bei 28° der Belag deutlich rot, aber zu dünn, als daß man mit Sicherheit feststellen könnte, ob etwa eine farblose Randzone vorhanden ist, es schien nicht der Fall zu sein. Die bei 1 mg gewachsene, sehr dünne und schmale Kolonie (strichf. Impfung) zeigte gleiches Verhalten.

5) Spektroskopische Untersuchung des Farbstoffes.

Von besonderem Interesse war die Frage nach der Natur des Farbstoffes von Spirillum rubrum, zumal da das indifferente Verhalten bei plötzlichen Lichtschwankungen einigen Zweifel darüber aufkommen ließ, ob dieser Organismus auch wirklich zu den Purpurbakterien gehöre.

Herr Prof. Meyer hat mit mir zusammen den Farbstoff untersucht und sagt darüber:

„Ray Lankester (1873, p. 425) bezeichnet den Gesamtfarbstoff als Bakteriopurpurin und sagt: „This name is used to indicate, not a definite chemical compound, nora body of constant crystalline form, but a natural pigment occuring in the plastids of B. rubescens, and definitely characterised by the absorption-spectrum figured in the woodent". Der Holzschnitt zeigt uns das Band I, welches bei D beginnt und etwa ⅓ des Zwischenraums zwischen D und E einnimmt, ferner das Band II, welches etwas mehr als das letzte Drittel dieses Raumes einnimmt und noch ein wenig über E hinausreicht. Die Endabsorption reicht über die Mitte zwischen G und F (nach F zu) hinaus.

Warming beschreibt das Spektrum (1875, p. 3 der franz. Zusammenfassung) nur wenig anders als Lankester.

Engelmann hat 1883 eine 0,1 mm dicke Schicht seines Bact. photometricum (Chromatium) mittels des Mikrospektralokulars untersucht, welche für das bloße Auge eine dunkle Portweinfarbe besaß. Das Spektrum zeigte folgendes: Rotes Ende unverändert. Band I von λ 0,61—0,71 Mikrom. dunkel. Band II von λ 0,55—0,52 Mikrom. weniger dunkel. Violettes Ende bis λ 0,45 verdunkelt.

Engelmann (1888, p. 679) benutzt ferner ausgetrocknete, in Kanadabalsam liegende Bakterien und eine Gasflamme und untersucht mit dem Mikrospektrometer. Er fand (p. 682): Die Intensität J der durchgelassenen Strahlengattungen ist im äußersten sichtbaren Rot sehr hoch, wird gegen Orange hin noch höher, um etwa zwischen λ 0,68 Mikr. und 0,64 Mikr. das absolute Maximum zu erreichen. Darauf nimmt die Intensität mit, namentlich von λ 0,63 an, sehr rasch zunehmender Geschwindigkeit ab, um bei λ 0,59 ein erstes Minimum zu erreichen. (Absorptionsband bei D—J), steigt wieder bis λ 0,65, um rasch aufs neue und noch tiefer als zuvor zu sinken (Absorptionsband II zwischen etwa 0,55 und 0,52) und nach einer vorübergehenden kleinen Erhebung bei etwa 0,51 das absolute Minimum im Blaugrün, kurz vor F etwa bei 0,49 zu erreichen (drittes äußerst schwaches Absorptionsband III). Gegen das violette Ende wächst J von hier an wieder beträchtlich".

Engelmann findet also jetzt 3 Absorptionsbänder: Absorptionsband I von λ 0,63—0,59 (Minimum von J bei 0,59) stärkstes Band. Absorptionsband II von λ 0,55—0,52 mittleres Band. Absorptionsband III λ 0,49 μ sehr schwaches Band. Zu diesen kommt noch das sogleich zu besprechende Band im Ultrarot: Absorptionsband IV von λ 0,75—1,0 μ (Minimum von J zwischen 0,80—0,90 μ). Ferner hat Engelmann mittels des Bolometers das Spektrum des Lichtes eines Argandbrenners, welches durch eine 0,01 mm dicke rot gefärbte Zooglöamembran von B. photrometricum, die angetrocknet in Kanadabalsam lag, hindurchgegangen war, auf die Absorption der dunkeln Wärmestrahlen hin untersucht. Er sagt: „Als auffälliges Ergebnis zeigt sich die erwartete höchst bedeutende Absorption der ultraroten Strahlen an einer beschränkten Stelle zwischen etwa 0,75 und 1 Mikr., mit dem Maximum zwischen 0,80 und 0,90“.

Er macht auf die Verschiedenheiten des Sonnenspektrums und des Spektrums des Gaslichtes an verschiedenen Stellen aufmerksam.

Archichovskij (1904) fand für die Schwefelkohlenstofflösung seines Bakterioerythrins folgendes Absorptionsspektrum:

Band A von λ 0,580 bis 0,555 Mikrom. Band II von λ 0,540 bis 0,515 Mikrom. Band III von λ 0,425 Mikrom. In der alkoholischen Lösung: Band II von λ 0,540 bis 0,512 Mikrom. Band III von λ 0,507 bis 0, 480 Mikrom. Molisch (1907) findet für den Farbstoff der Bakterien (Rhodospirillum), indem er eine dichte Aufschwemmung in einer Schichtendicke von ungefähr 3 mm verwendet, eine schwache Endabsorption im Rot bis 0,675 und eine stärkere im äußersten Violett bis Blau. Die Absorptionsstreifen sind: I. Von 0,60 bis 0,58 Mikr. Deutlichstes Band. II. Von 0,56 bis 0,54 gegen das rote Ende scharf. III. Von 0,52 bis 0,49 (im direkten Sonnenlicht sichtbar).

Das spektroskopische Verhalten des grünen und roten Bestandteiles des Gesamtfarbstoffes:

Das Bakteriochlorin zeigt in relativ dicker Schicht der alkoholischen Lösung folgendes Spektrum nach Molisch (1907, p. 81). Endabsorption im Rot von λ 0,75 bis λ 0,65 Mikrom. Band I im Gelb von λ 0,615 bis 0,565 (Maximum 0,60). Endabsorption im Violett von λ 0,535 ab. Das Bakteriopurpurin von Molischs Rhodobacillus palustris (Reinkultur) in Schwefelkohlenstoff zeigte folgendes Spektrum: Band A im Gelbgrün von λ 0,585 bis 0,555 Mikrom. Band II im Grün von λ 0,540 bis 0,515 Mikrom.

Band III im Blau von λ 0,500—0,485 (sehr schwach).

Das Bakteriopurpurin einer Rhodospirillum-Spezies, Bakteriopurpurin β in Schwefelkohlenstoff lieferte folgendes Spektrum:

Band A im Grün von λ 0,560—0,535 Mikrom. (stärkste Abs. 0,545).

Band II im Blaugrün von λ 0,520—0,490 Mikrom.

Band III im Blau von λ 0,480—0,460 Mikrom (sehr schwach).

Schwache verwaschene Endabsorption im Violett.

Alle Bänder sind bei dem Bakteriopurpurin β etwas nach Violett verschoben gegenüber dem Bakteriopurpurin α.

1909 habe ich mit Vahle zusammen eine Untersuchung des optischen Verhaltens des Farbstoffes von Spirillum rubrum Esmarch vorgenommen.

Die am Objektträger angetrocknete reine Bakterienmasse zeigte folgendes Absorptionsspektrum bei Benutzung eines, für alle folgenden Untersuchungen ebenfalls verwendeten, Auerbrenners:

Rotes Ende nicht bemerkbar absorbiert.

Band I λ 0,59—0,58.

Band II λ 0,56—0,54.

Violett stark geschwächt bis 0,43, dann weiter langsam an Intensität abnehmend.

Bei 0,510—0,495 ein ganz schwacher Schatten.

Diese Befunde stimmen ungefähr mit Engelmanns Angaben für dessen Chromatium, bei Anwendung eines Argandbrenners überein:

I. λ 0,63—0,59, II. λ 0,55—0,52, III. 0,49. Auch Molischs Spektrum der Rhodospirillenaufschwemmung stimmt damit I λ 0,60—0,58, II λ 0,56—0,54, III λ 0,52—0,49 (im Sonnenlichte).

Für die Herstellung der Farbstoffauszüge standen vorzüglich 2 Portionen von Bakterienmaterial zur Verfügung. No. I stammte von Kulturen, die auf Kartoffelpreßsaftagar bei 28° gewachsen waren, No. II von, auf Kartoffelscheiben angelegten, Kulturen. Beide Arten von Material, die verschieden intensiv gefärbt waren, gaben die gleichen Resultate. Nur der Streifen I der Alkohollösung ist bei No. I nicht zu bemerken gewesen, was vielleicht damit zusammenhängt, daß die Bakterien No. I keine bräunlichrote sondern eine rosarote Farbe hatten.

Aus dem lufttrockenen Materiale wurde zuerst ein alkoholischer Auszug hergestellt. Dieser Auszug zeigte in dicker Schicht folgendes Spektrum: Endabsorption im Rot nicht bemerkbar:

Band I λ 0,59—0,58.

Endabsorption im Violett bis 550. Das Band I war stets sehr schwach In dünner Schicht zeigte der alkoholische Auszug der Bakterien dagegen folgendes Spektrum:

Band I fehlt.

Band II λ 0,536—0,515.

Band III λ 0,505—0,485.

Die Farbe dieses alkoholischen Auszuges war schwach bräunlich, nicht etwa grün. Zur Trennung der beiden anscheinend auch bei Spirillum rubrum vorhandenen Farbstoffe würde es vielleicht besser sein, den Auszug zuerst mit etwas verdünnterem Alkohol herzustellen. Wahrscheinlich hat Molisch auch einen solchen angewandt und keinen absoluten Alkohol, denn absoluter Alkohol mischt sich mit Schwefelkohlenstoff, sodaß Molisch mit diesem die alkoholische Lösung gar nicht hätte ausschütteln können, wenn der Alkohol nicht wasserhaltig gewesen wäre. Das Band I der konzentrierten Lösung entspricht nun ungefähr „dem Band I im Gelb“ des Bakteriochlorins von Molisch und es wäre möglich, daß in unserer Lösung nur sehr wenig Bakteriochlorin neben Bakterioerythrin vorhanden gewesen wäre, dem die beiden in verdünnten Lösungen hervortretenden Bänder II und III angehören könnten.

Die mit Alkohol ausgezogene Bakterienmasse wurde dann mit Schwefelkohlenstoff extrahiert; die intensiv rote Lösung wurde vorsichtig und schnell verdampft und der Rückstand wurde sofort mit absolutem Alkohol aufgenommen. So entstand eine alkoholische Lösung des Bakterioerythrins, welche hell bräunlich war und nicht fluoreszierte. Ich will gleich bemerken, daß die Krystalle des Farbstoffes orangefarbig erscheinen. Sie lösen sich also in Schwefelkohlenstoff mit schön rosenroter, in Alkohol mit brauner Farbe. Steht die braune alkoholische Lösung über der roten Schwefelkohlenstofflösung, so erscheint sie selbstverständlich mehr grünlich.

Die braune alkoholische Lösung des Bakterioerythrins zeigte folgendes Spektrum:

Dicke Schicht: Endabsorption im Rot bis 0,710, Band A Streifen im Rot von 0,680—0,660, Endabsorption im Violett 0,545.

Dünne Schicht: Band II von λ 0,535—0,517, Band III von λ 0,502—0,485, Band IV von λ 0,465—0,455 unscharf.

Diese Streifen sind so nur bei sehr starkem, durch Schusterkugel konzentriertem, hängenden Auerlicht zu sehen.

Ohne Schusterkugel trat nur hervor:

Dicke Schicht: Endabsorption im Rot bis λ 0,630, Endabsorption im Violett bis λ 0,550.

Dünne Schicht: Band II von λ 0,535—0,517.

Band III von λ 0,502—0,485.

Die rote Schwefelkohlenstofflösung des Bakterioerythrins zeigte folgendes Spektrum:

Dickste Schicht: Rotes Ende unverändert. Violettes Ende bis 0,585 absorbiert.

Dünnere Schicht: Band A von λ 0,578—0,557.

Band II von λ 0,538—0,519.

Band III von λ 0,505—0,483.

Diese Zahlen stimmen zuerst sehr gut mit denen von Archichovskij A. 0,580—0,555, II. 0,540—0,515, III. 0,500—0,480.

Auch das Bakterioerythrin des Molischschen Rhodobacillus verhält sich ähnlich: A. 0,585—0,555, II. 0,540—0,515, III. 0,500—0,485. Sein Bakterioerythrin β weicht etwas mehr ab.

Da sich beide Farbstoffe, der rote und der vielleicht grüne in absolutem Alkohol lösen, so wurde noch ein mittelst Alkohols hergestellter Auszug der Bakterien untersucht, der alle beide Farbstoffe enthalten mußte. Der Auszug wurde mittelst siedenden Alkohols im Kohlensäurestrome bereitet. Das Spektrum des Auszuges war das folgende:

Dicke Schicht: Rot bis 0,660 geschwächt, schwache Andeutung des Streifens im Rot. Band I von λ 0,590—λ 0,575. Violett bis 0,545 absorbiert.

Dünne Schicht: Rot unverändert.

Band II von λ 0,535—0,518.

Band III von λ 0,502—0,485.

Band IV von λ 0,465—0,455 relativ unscharf.

In der Tat zeigten sich also hier die vorauszusehenden Streifen alle im Spektrum der alkoholischen Lösung des Gesamtfarbstoffes sehr deutlich, vorzüglich fanden wir auch Band II und Band III fast an denselben Stellen, an denen wir sie bei der Untersuchung der angetrockneten Bakterien gefunden hatten.

Das Bakterioerythrin des Spirillum rubrum krystallisiert leicht, wenn man trockne Bakterienmassen unter dem Deckglase mit Schwefelkohlenstoff befeuchtet. Die Kriställchen zeigen einen schönen Pleochlorismus; je nach der Lage erscheinen sie orangerot oder violett.

Es erscheint nach den Versuchen von Molisch und nach den von uns angestellten wohl kaum zweifelhaft, daß die Hauptmasse des Gesamtfarbstoffes der Purpurbakterien, das Bakteriopurpurin, aus dem roten Bakterioerythrin (Archichovskij) besteht. Zu diesem gesellt sich eine mehr oder weniger große Menge eines andern Farbstoffes, dessen alkoholische Lösung nach Molisch grün gefärbt sein soll und dessen Absorptionsspektrum nur durch ein Band, das Band I der alkoholischen Bakteriopurpurinlösung, charakterisiert ist, während das Bakterioerythrin den Streifen II und III, eventuell auch α und IV der alkoholischen Lösung veranlaßt.

Mit dem Chlorophyllspektrum (alkoholische Lösung): I λ 0,670—0,635, II λ 0,622—0,597, III λ 0,587—0,565, IV λ 0,544—530 haben die gefundenen Streifen nichts zu tun, auch zeigte Molisch, daß die übrigen Eigenschaften seines Bakteriochlorins nicht mit denen des Chlorophylls stimmen. Das Bakterioerythrin weicht in allen seinen Eigenschaften ab von dem Phyko-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

erythrin der Florideen und stimmt auch nicht in allen seinen Eigenschaften mit dem Karotin überein. Allerdings verhält sich das Bakterioerythrin gegen konzentrierte Schwefelsäure, Salpetersäure, Bromwasser, Chloraljod und gegen Lösungsmittel ähnlich wie Möhrenkarotin, aber das Spektrum der alkoholischen Lösung des Möhrenkarotins zeigt andre Bänder, nämlich: 1. λ 0,490—0,475, 2. λ 0,455—0,445, 3. λ 0,430—0,418. Mehr stimmt das Spektrum des Karotins von Nectria cinnabarina (des Nectriins von Zopf — Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen, 1893, p. 44) damit überein: A. λ 0,580—0,550, II λ 0,530—0,510 III λ 0,495—0,480; Endabsorption bis ungefähr λ 0,430. Überhaupt sind die Eigenschaften des Bakteriopurpurins ganz die der Karotinine; so gibt auch die alkoholisch-ätherische Lösung des Bakterioerythrins mit Bariumhydroxyd einen Niederschlag und die alkoholische mit Natriumhydroxyd eine Trübung."

B. Ergänzende Beschreibung des Spirillum volutans Kutscher und Vergleich desselben mit Spirillum rubrum Esmarch.

1) Ergänzende Beschreibung des Spirillum volutans Kutscher.

Eine Zusammenstellung der Literatur über Spirillum volutans findet sich in der, unter Leitung des Herrn Prof. A. Meyer im Botan. Institut Marburg entstandenen, Arbeit von Ellis: Untersuchung über Sarcina, Streptococcus und Spirillum 1903. Der Organismus wird hier als Spirillum giganteum bezeichnet. Leider konnte ich das Material von Ellis nicht mehr benutzen, da es abgestorben war. Ob das von Herrn Prof. Heim stammende, von mir benutzte Spirillum volutans identisch ist mit dem Spirillum von Ellis, ließ sich nicht mit Sicherheit entscheiden, da die in morphologischer Beziehung vortreffliche Diagnose von Ellis zur Wiedererkennung nicht ausreicht, die physiologischen Eigenschaften sind hier nicht genügend berücksichtigt. Es ist uns aber sehr wahrscheinlich, daß es sich um die gleichen Spezies handelt, da alle wesentlichen Merkmale übereinstimmen. Nur in Bezug auf die Beweglichkeit nach zahlreichen Umimpfungen zeigt sich eine Differenz, doch kann das ja sehr wohl auf einer Zufälligkeit beruhen. Wie sich das auch verhält, jetzt ist der von mir zu beschreibende Organismus als Spirillum volutans anzusehen.

Den morphologischen Merkmalen, die Ellis für sein Spirillum gibt und die vollständig mit denen des hier beschriebenen Spirillums übereinstimmen, habe ich nur hinzuzufügen: Bei einem Druck von 5 Atm. Luft finden sich in Bouillon Oidien von fast 2 μ Dicke und bis zu 40 μ Länge (F. 83. Vgl. Figurenerkl.). Die Oidien zeigten bis zu 10 Windungen, waren mit Fett und Volutin vollgepfropft und waren lebhafter beweglich als unter allen andern Bedingungen. So lange und dicke Oidien von Spirillum volutans habe ich sonst nie beobachtet. Dieses gute Gedeihen des Spirillums dürfte darauf zurückzuführen sein, daß es unter günstigsten Bedingungen wuchs, einerseits in flüssigem Substrat, andrerseits in der Nähe seines Sauerstoffoptimums.

Physiologische Merkmale berücksichtigt Ellis nur insoweit, als er das Wachstum in verschiedenen Nährsubstraten angibt. Er stellt fest, daß das Spirillum in Nährlösung II, III, IV, V, Vα, Vβ, Vγ, VI, VII, VIII, IX, X, XI nicht wächst, daß es in Nährlösung I, Fleischwasser, Nährbouillon wächst.

Nährböden.

Ich habe die Angaben von Ellis dahin zu ergänzen, daß Spirillum volutans in Nährlösung 0, ferner in Kartoffelabkochung 5 + 100, Kaninchenmistabkochung 5 + 100 gut, in Pepton (1 Proz.) — Inulin (0,5 Proz.), Pepton (1 Proz.) — Rohrzucker (0,5 Proz.), Pepton (1 Proz.) — Glycerin (1 Proz.) schwach, in Asparagin (1 Proz.) — Glycerin (1 Proz.) und Harnstoff (0,5 Proz.) — Rohrzucker (0,5 Proz.) nicht wächst.

Von festen Nährböden versuchte ich Dextroseagar, ⅓ Dextroseagar, Agar ohne Dextrose, Spirillenagar und Heyden-Agar. Auf den 3 ersten Nährböden wuchs Spirillum volutans kräftig, auf Heyden-Agar schwach. Über das Wachstum auf Spirillenagar hat Ellis berichtet, er bespricht für dieses Substrat auch die Folgen fortgesetzter Übertragungen und gibt an, daß nach 8—10 Überimpfungen (täglich ausgeführt) die Individuen fast nur zwei zu einem S vereinigte Bogen bildeten, mit Fett und Volutin vollgestopft wären, die Schnelligkeit der Bewegung eine maximale würde, die Schnelligkeit des Wachstums zunähme. Abgesehen von der Zunahme der Schnelligkeit der Bewegung kann ich das bestätigen. Ich sah, daß nach zahlreichen Umimpfungen auf Spirillenagar die Beweglichkeit vollständig aufgehört hatte.

Als günstigstes Substrat, in dem die Zellen am längsten und in relativ größter Zahl beweglich bleiben und in dem kräftiges Wachstum stattfindet, erkannte ich Nährbouillon. In den übrigen angegebenen flüssigen Substraten bleiben die Oidien ebenfalls bedeutend länger und kräftiger beweglich als auf festen, hier ist aber das Wachstum schwächer.

Verhalten zum Sauerstoff.

Bei meinen Versuchen zur Feststellung des Minimums und Optimums der Sauerstoffspannung benutzte ich Spirillenagar. Das Sauerstoffminimum des Wachstums liegt für Spirillum volutans zwischen 1 und 5 mg. Bei 0,6 und 1 mg Sauerstoff im Liter war nach 20 Tagen bei 28° noch kein Wachstum eingetreten. (Die Zellen waren tot, wie das Ausbleiben des Wachstums zeigte, nachdem die Kulturröhrchen in normale Sauerstoffspannung gebracht waren.) Bei 5 mg war unter denselben Bedingungen schwaches Wachstum zu konstatieren (Koloniebreite 1 mm — strichförmige Impfung).

Das Optimum der Sauerstoffspannung beginnt zwischen 68 und 120 mg und reicht bis zum normalen Luftdruck, möglicherweise ein wenig darüber hinaus. Bei 34 mg war die Kolonie in 4 Tagen 4 mm breit geworden, hatte etwa dieselbe Breitenausdehnung wie eine Kolonie bei normaler Sauerstoffspannung (strichförmige Impfung), der Belag war aber dünner. Bei 68 mg war der Belag nach derselben Zeit nur noch wenig dünner als bei einer Kolonie unter normaler Sauerstoffspannung und bei 120 mg zeigte sich kein Unterschied. Mit 5 Atm. Luft (festes Substrat) war das Maximum der Sauerstoffspannung noch nicht erreicht. Die Wachstumsintensität hatte schon erheblich nachgelassen.

Temperatur.

Das Temperaturmaximum liegt zwischen 39 und 41°. Bei 41° war nach 6 Tagen kein Wachstum eingetreten (die Oidien waren tot). Bei 39° betrug die Koloniebreite (strichförmige Impfung) nach derselben Zeit etwa 0,3 mm.

Das Temperaturoptimum liegt zwischen 18—23° (Zimmertemperatur) und 28°. Bei 37, 35, 33° ist das Wachstum viel schwächer, bei

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

30° nur wenig schwächer als bei 28°. Bei Zimmertemperatur (18—23°) ist das Wachstum bedeutend schwächer als bei 28°.

Das Temperaturminimum liegt unterhalb von 9°. (Koloniebreite nach 4 Wochen bei 9° ca. 1 mm.)

Alkalibildung.

Spirillum volutans bildet in Bouillon reichlich Alkali. Zur Neutralisation von 50 ccm Bouillon, in dem der Organismus 4 Wochen gewachsen war, wurden in einem Falle 39,5 ccm $^1/_{10}$ Normalsalzsäure, in einem zweiten 35,5 ccm gebraucht. Schon einen Tag nach der Impfung reagierte vorher neutrale Bouillon schwach alkalisch.

Diastase.

Spirillum volutans bildet keine Diastase (Untersuchungsmethoden wie bei Bac. oxalaticus).

Salpetersäurereduktion.

Spirillum volutans reduziert Salpetersäure nicht. Ich ließ den Organismus in einer Lösung wachsen, die zu ⅔ aus Nährlösung I, zu ⅓ aus Nährlösung VII bestand. (Untersuchungsmethode wie bei Bac. oxalaticus.)

Beweglichkeit bei Sauerstoffabschluß.

Unter Deckglas mit Vaseline abgeschlossen (Untersuchungsmethode wie bei Spirillum rubrum) blieben aus Bouillon entnommene Oidien von Spirillum volutans relativ lange beweglich. 12 Stunden nach Anfertigung des Präparates hatte die lebhafte Bewegung noch nicht abgenommen, ebensowenig nach 24 Stunden. Nach 2 Tagen war die Bewegung schwächer geworden. Nach 3 Tagen war die größte Zahl der Oidien unbeweglich. Nach 5 Tagen fanden sich nur noch ganz vereinzelte bewegliche Spirillen und nach 7 Tagen waren alle Zellen unbeweglich.

Widerstandsfähigkeit gegen supramaximale Temperatur.

Die Tötungszeit der Oidien bei 55° wurde in gleicher Weise bestimmt wie bei Spirillum rubrum. Nach ½ Stunde lebten die Oidien noch, nach 1 Stunde waren sie schon tot.

2. Vergleich des Spirillum rubrum Esmarch mit Spirillum volutans Kutscher.

Wie aus einem Vergleich des Spirillum rubrum mit dem Spirillum volutans hervorgeht, zeigen die beiden Organismen weitgehende Übereinstimmung.

Die Morphologie zeigt manche Ähnlichkeiten: Der Protoplast scheint gleich zu sein, beide bilden Volutin, nur bildet Spirillum rubrum im Gegensatz zu Spirillum volutans nur Spuren von Fett, wenn es überhaupt diesen Reservestoff bildet, was wohl der Fall ist. Die Verhältnisse der Membranen sind gleich (in beiden Fällen die schwere Färbbarkeit, die nur mit Karbolfuchsin gelang). Dem Umstande, daß bei der einen Form Plasmolyse zu erhalten ist, bei der andern nicht, kann kein Gewicht beigelegt werden, da wir ja gesehen haben, daß sich in dieser Beziehung zweifellos nahestehende Formen different verhalten. Die Begeißelung ist bei beiden gleich, nur finden wir bei Spirillum rubrum in der Höchstzahl 4 Geißeln an jedem Ende, bei Spirillum volutans ein ganzes Geißelbüschel.

Noch mehr Ähnlichkeiten zeigt das physiologische Verhalten der beiden Spezies: Die Kardinalpunkte der Temperatur und des Sauerstoffbedürfnisses sind, wenn auch nicht immer genau übereinstimmend, so doch sehr ähnlich. Die Alkalibildung ist auffallend gleich; die Widerstandsfähigkeit gegen supramaximale Temperaturen ist in beiden Fällen sehr gering. Das Wachstum in den verschiedenen Nährlösungen 0—11 verhält sich im allgemeinen gleich, nur in bezug auf Nährlösung X zeigt sich ein Unterschied, Spirillum rubrum wächst darin, Spirillum volutans nicht.

Aus den vielen übereinstimmenden Momenten darf man wohl den Schluß ziehen, daß es sich bei Spirillum volutans und Spirillum rubrum um nahe Verwandte handelt, deren wesentlicher Unterschied in dem Vorhandensein und Fehlen des Farbstoffes liegt.

Literatur.

Archichovskij, Zur Frage über das Bakteriopurpurin. (Bull. d. Jard. Imp. de St. Pétersbourg. T. 4. 1904. Livr. 4. Referat im Botan. Zentralbl. 64. 1905. p. 25.)

Banning, Zur Kenntnis der Oxalsäurebildung durch Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 8. 1902. p. 395.)

Baur, Myxobakterienstudien. (Arch. f. Protistenk. Bd. 5. 1905. p. 92.)

Blau, Über die Temperaturmaxima der Sporenkeimung und Sporenbildung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 15. 1906. p. 101.)

Brefeld, Polysphondylium violaceum und Dictyostelium mucoroides. (Mykologie. Heft 6. 1884.)

Ellis, Untersuchungen über Sarcina, Streptococcus und Spirillum. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903. p. 8.)

Engelmann, Bacterium photometricum. (Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 30. 1883.)

—, Die Purpurbakterien und ihre Beziehungen zum Licht. (1888. p. 661.)

Eschenhagen, Über den Einfluß von Lösungen verschiedener Konzentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen. (Dissert.) Leipzig 1889.

Esmarch, Über die Reinkultur eines Spirillum. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. p. 225.)

Fayod, Beitrag zur Kenntnis niederer Myxomyceten. (Botan. Zeitung. Jahrg. 41. 1883. p. 169.)

Fischer, Die Plasmolyse der Bakterien. (Sitzungsber. d. kgl. sächs. Ges. d. wiss. Math. Kl. 1894. p. 521.)

—, Vorlesungen über Bakterien. 1903.

Garbowski, Über Abschwächung und Variabilität des Bac. luteus Smith et Baker (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. 1907. p. 641; Bd. 20. 1908. p. 108.)

Gottheil, Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901. p. 463.)

Grimme, Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902. p. 322.)

Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. 1906. p. 858.

Klebs, Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 32. 1898. p. 1.)

de Kruyff, E., Lebensgeschichte von Myxococcus javanensis sp. n. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. 1908. p. 386.)

Kuntze, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 13. 1904. p. 1.)

Ray Lankester, On a peach coloured Bacterium, Bacterium rubescens. (Quart. Journ. of Mikrosk. Sc. N. S. Vol. 13. 1873. p. 425.)

Lehmann u. Neumann, Bakteriologie und bakteriologische Diagnostik. 4. Aufl. 1907.

Löffler, Eine neue Methode zum Färben der Mikroorganismen, im besonderen ihrer Wimperhaare und Geißeln. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. p. 209.)

Löhnis u. Pillai, Über stickstofffixierende Bakterien. II. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. 1907. p. 87.)

Maaßen, Die teratologischen Wuchsformen der Bakterien und ihre Bedeutung als diagnostisches Hilfsmittel. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 21. 1904.)

Mayenburg, Lösungskonzentration und Turgorregulation bei den Schimmelpilzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 36. 1901. p. 381.)

Meyer, Arthur, Studien über die Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien. (Flora. Bd. 84. Ergänzungsbd. 2. 1897. p. 202.)
—, Über die Verzweigung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 7. 1901. p. 55.)
—, Über Chlamydosporen und sich mit Jod blau färbende Zellmembranen bei Bakterien. (Ber. d. d. b. Ges. Bd. 19. 1901. p. 428.)
—, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. 1903.
—, Erstes mikroskopisches Praktikum. 2. Aufl. 1907.
—, Der Zellkern der Bakterien. (Flora. 1908. p. 338.)
Migula, Arbeiten aus dem bakteriologischen Institut der techn. Hochsch. z. Karlsruhe. Bd. 1. 1897. p. 139.
—, System der Bakterien. 2. Bd. 1900.
Miyoshi, Manabu, Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbakterien der Thermen von Yumoto bei Nikko. (Journ. of the Coll. of Sc. Imp. Univers. Tokyo, Japan. Vol. 10. Pt. II. 1897. p. 143.)
Molisch, Die Purpurbakterien. 1907.
Neide, Die Alkoholentfärbung der nach Gram gefärbten Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1903. p. 657.)
Olive, Monograph of the aerasicae. (Proc. Boston Soc. Nat. Hist. Vol. 30. 1902. p. 483.)
Pantanelli, Zur Kenntnis der Turgorregulation bei Schimmelpilzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 40. 1904. p. 303.)
Quehl, Untersuchungen über die Myxobakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 16. 1906. p. 9.)
Raciborski, Über die obere Grenze des osmotischen Druckes. (Bull. intern. de l'Acad. d. Sc. Cracovie No. 7. 1905. p. 461.)
Reichenbach, Über Verzweigung bei Spirillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 29. 1901. p. 556.)
Solms, Botan. Zeitung. 62. 1904. Abt. II. p. 39.
Thaxter, On the Myxobacteriaceae, a new order of Schizomycetes. (Botan. Gaz. 1892. p. 389.)
—, Further observations on the Myxobacteriaceae. (Botan. Gaz. 1897. p. 395.)
—, Notes on the Myxobacteriaceae. (Botan. Gaz. 1904. p. 405.)
Vuillemin, Les myxobacteriacées. (Rev. gen. d. Scienc. T. 4. Paris 1893. p. 501.)
Warming, „Om negle ved Danmarks Kyster levende Bacterier". (Aftryk af Vidensk. meddelelser fra d. naturhist. Foven. i Kjöbenhavn. 1875. No. 20—28; Franz. Resumé: Observations sur quelques Bacteries, qui se rencontrent sur les côtes du Danemark.)
Winogradsky, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. Heft 1. 1888.
von Wisselingh, Mikrochemische Untersuchungen über die Zellenwände der Fungi. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 31. 1898. p. 619.)
Wund, Feststellung der Kardinalpunkte der Sauerstoffkonzentration. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906. p. 682.)
Zederbauer, Myxobacteriaceae eine Symbiose zwischen Pilzen und Bakterien. (Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien, math. nat. Klasse. 1903.)
Zopf, Oxalsäurebildung durch Bakterien. (Ber. d. D. bot. Ges. Bd. 18. 1900. p. 32.)
—, Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen. 1893.
Zukal, Über Myxobakterien. (Ber. d. D. bot. Ges. Bd. 15. 1897. p. 542.)

Tafelerklärung.

Vergleichende Untersuchungen über die Myxobakteriazeen und Bakteriazeen.

Myxobakteriazeen.

Tafel I.

Fig. 1. Fruchtkörper von Myxococcus ruber 5 Stunden nach der Aussaat (S. 189). Vergr. 1 : 650.

Fig. 2. Kolonie von M. ruber 40 Stunden nach der Aussaat (S. 188, 189). Netz mit relativ wenigen Erhebungen. Vergr. 1 : 90.

Fig. 3—8. M. ruber, 80 Stunden nach der Aussaat (S. 190). Vergr. 1 : 90. 3 und 4. Einzelne Netzpartien. 5. Die Komponenten der einzelnen Komplexe haben sich genähert. 6. Weiteres Stadium der Annäherung der Erhebungen. 7. Die Zusammensetzung aus einzelnen Erhebungen ist noch zu sehen. 8. Das, durch Verschmelzung der Erhebungen entstandene, vollständig homogen erscheinende Gebilde.

Fig. 9. M. ruber-Stäbchen kurz nach der Keimung mit Tusche. Vergr. 1:2250. (S. 196.)

Fig. 10. Zur Fruktifikation sich anschickende Stäbchen von Ch. crocatus mit Tusche (S. 196). Vergr. 1 : 2250.

Fig. 11. P. fuscum-Stäbchen 3 Tage nach der Aussaat aus Kartoffelabkochung 5 + 100 mit Tusche (S. 196). Vergr. 1 : 2250.

Fig. 12. Vegetative Stäbchen von Ch. crocatus. Vergr. 1 : 2250. (S. 195).

Fig. 13. Stäbchen von M. ruber (aus 2 Tage alter Kaninchenmistagar 10 + 100-Kultur. Vergr. 2250 (S. 200). a) lebend, b) in zweiproz. Phenollösung, c) in zehnproz. Kalilauge, d) über der Flamme angetrocknet und gefärbt mit Methylenblau 1 + 10.

Fig. 14. Stäbchen von M. ruber. Vergr. 1:2250. (S. 200.) a) mit Osmiumsäure fixiert, b) ebenso behandelt und gefärbt mit Jod-Jodkalium, c) nicht fixiert, gefärbt mit Jod-Jodkalium, d) lebend, e) gefärbt mit Methylenblau 1 + 10.

Fig. 15. Cystenstäbchen von P. fuscum. Vergr. 1 : 2250. (S. 200.) a) in Wasser, b) in 10-proz. Kalilauge.

Fig. 16. M. ruber-Stäbchen aus einer 24 Stunden alten Kultur, 10 Minuten mit Flemingscher Lösung fixiert, mit Methylenblau 1 + 10 gefärbt. Vergr. 1 : 2250. (S 202.)

Fig. 17. M. ruber-Stäbchen aus derselben Kultur, 10 Minuten mit Flemingscher Lösung fixiert, mit Methylenblau 1 + 100 gefärbt. Vergr. 1 : 2250. (S. 202.)

Fig. 18. Stäbchen von P. fuscum aus einer 20 Stunden alten Kultur, gefärbt mit Methylenblau 1 + 100 (S. 202). Vergr. 1 : 2250.

Fig. 19, 20, 21. Zur Fruktifikation sich anschickende Stäbchen von Ch. crocatus, 1 Stunde mit Flemingscher Lösung fixiert, 4 Stunden gewässert, 10 Stunden mit Ferriammoniumsulfat behandelt, 20 Stunden mit Hämatoxylin gefärbt. Vergr. 1 : 2250. (Apochromat). (S. 203). 19. nicht differenziert, 20. mit 1 Proz. Schwefelsäure differenziert. 21. mit einer Mischung von 1 Tr. einproz. Schwefelsäure und 1 ccm Wasser differenziert.

Fig. 22. Stäbchen von P. fuscum aus Dextrose (0,5 Proz.)- Pepton (0,5 Proz.)-Lösung. 3 Tage nach der Aussaat gefärbt mit Methylenblau 1 + 100. Vergr. 1 : 2250. (S. 203.)

Fig. 23. M. ruber-Stäbchen von Dextroseagar, 3 Tage nach der Impfung . Vergr. 1 : 2250. (S. 204.)

Fig. 24. M. ruber-Stäbchen (Teilungsstadien) aus Dextrose (0,5 Proz.)- Pepton (0,5 Proz.)-Lösung 30 Stunden nach der Aussaat, 10 Minuten mit Flemingscher Lösung fixiert, 2 Stunden gewässert, mit Methylenblau 1 + 100 gefärbt. Vergr. 1 : 2250. (S. 205.)

Fig. 25. Sporen von M. ruber, 2 Monate alt, gefärbt mit Methylenblau 1 + 10, Farbstoffüberschuß mit Wasser entfernt. Vergr. 1 : 2250. (S. 206.)

Fig. 26. Cystenstäbchen von P. fuscum, 10 Minuten mit Flemingscher Lösung fixiert, 2 Stunden gewässert, 18 Stunden mit einem Gemisch von gleichen Teilen Wassers und Delafieldschen Hämatoxylins gefärbt. Vergr. 1 : 2250. (S. 208.)

Fig. 27. Zur Fruktifikation sich anschickende Stäbchen von Ch. crocatus, 10 Miunten mit Flemingscher Lösung fixiert, 2 Stunden gewässert, 20 Stunden mit Delafieldschem Hämatoxylin gefärbt. Vergr. 1 : 2250. (S. 209.)

Fig. 28. Zur Fruktifikation sich anschickende Stäbchen von Ch. crocatus, gefärbt mit Methylenblau 1 + 100. Vergr. 1 : 2250. (Apochromat.) (S. 208.)

Fig. 29. M. ruber-Stäbchen. Stadium der Sporenbildung, 10 Minuten mit Flemingscher Lösung fixiert, 2 Stunden gewässert, mit Methylenblau 1 + 100 gefärbt; bei einem Teil ist der überschüssige Farbstoff mit Wasser entfernt. Vergr. 1 : 2250. (S. 210.)

Fig. 30. Anormale Fruchtkörper von Ch. crocatus, der eine etwas gedrückt. Daneben eine normale Cyste von Ch. crocatus. Vergr. 1 : 190. (S. 214).

Fig. 31. Stäbchenstrang aus einem mit Eau de Javelle-Alkohol-Methylenblau 1 + 100 behandelten Cystophor. Vergr. 1 : 2250. (Apochromat.) (S. 216.)

Fig. 32. Stäbchen aus der noch nicht differenzierten kugeligen Masse, die dem jungen Cystophor aufsitzt, mit Eau de Javelle-Alkohol-Methylenblau 1 + 100. a) bei hoher, b) bei tiefer Einstellung. Vergr. 1 : 2250. (Apochromat.) (S. 217.)

Fig. 33. Fäden eines häufig mit Ch. crocatus zusammen beobachteten Organismus. Vergr. 1: 2250 (S. 217). a) ungefärbt, b) gefärbt mit Methylenblau 1 + 10, c) gefärbt mit Methylenblau 1 + 100.

Fig. 34. Vom Cystophor abgesprengte Streifen, nachdem der Cystophor 24 Stunden in einproz. Osmiumsäure gelegen hatte. Vergr. 1 : 2250. (S. 217).

Tafel II.

Fig. 35. Stäbchen eines auf Glas flach aufgewachsenen Cystophors, a) bei tiefer, b) bei hoher Einstellung. Vergr. 1 : 2250. (S. 218.)

Fig. 36. Streifen von einer andern Stelle desselben Präparates bei tiefer Einstellung. Vergr. 1 : 2250. (S. 218.)

Fig. 37. Entwicklung eines Cystophors: a) Erstes makroskopisch sichtbares Stadium der Cystophorbildung, b) 3 Stunden später, c) 6 Stunden später. d) fertiger Fruchtkörper. (S. 219.) Vergr. 1 : 55.

Fig. 38. Verschiedene Fruchtkörper von P. fuscum. Vergr. 1 : 190. (S. 221.) a) normale Cysten. b) bohnenförmige Cyste, c) Cyste mit 2 Scheidewänden, d) Cysten mit Sekundärcysten. e) anormal kleine cystenartige Gebilde.

Fig. 39. Rasiermesserschnitt durch eine in Gummischleim eingebettete Cyste von P. fuscum. Vergr. 1 : 2250. (S. 222.)

Fig. 40. Stäbchen der Cystenhülle von P. fuscum nach Eau de Javelle-Salpetersäure-Behandlung bei tiefer Einstellung. Vergr. 1 : 2250. (S. 222.)

Bacillus oxalaticus Kuntze.

Fig. 41—62 Vergr. 1 : 2250, Fig. 47a Vergr. 1 : 900.

Fig. 41. 4 Wochen alte Sporen, auf Dextroseagar gebildet. (S. 229.)

Fig. 42. Spore vor der Keimung. (S. 229.)

Fig. 43. Keimungsstadien. (S. 229.)

Fig. 44. Einzelschwärmer, gefärbt mit Fuchsin 1 + 10. (S. 229.)

Fig. 45. Doppelschwärmer. (S. 229.)

Fig. 46. Schwärmfaden. (S. 229.)

Fig. 47 u. 47a. Unseptierte, resp. wenigseptierte Fäden. (S. 229.)

Fig. 48. Einzeloidien aus einer 15 Stunden alten Dextroseagar-Kultur. (S. 229.)

Fig. 49. Doppeloidien aus einer 15 Stunden alten Dextroseagar-Kultur. (S. 229.)

Fig. 50. Septierter Faden aus einer 15 Stunden alten Dextroseagar-Kultur. (S. 229.)

Fig. 51. Oidien aus einer 40 Stunden alten Dextroseagar-Kultur. (S. 229.)

Fig. 52. Doppeloidien aus einer 22 Stunden alten Dextroseagar-Kultur. (S. 229.)

Fig. 53. Septierte Fäden aus einer 22 Stunden alten Dextroseagar-Kultur. (S. 229.)

Fig. 54. Doppelsporangien aus einer 15 Stunden alten Agar- ohne Dextrose-Kultur gefärbt mit Methylenblau 1 + 10 (unfertige Sporenanlage). (S. 231.)

Fig. 55. Einzelsporangien aus einer 22 Stunden alten Dextroseagar-Kultur. (S. 231.)

Fig. 56. Doppelsporangien aus einer 22 Stunden alten Dextroseagar-Kultur. (S. 231.), gefärbt mit Methylenblau 1 + 10 (fertige Sporenanlage).

Fig. 57. Sporangienfäden aus einer 22 Stunden alten Dextroseagar-Kultur. (S. 231.)

Fig. 58. Involutionsformen aus einer 40 Stunden alten Dextroseagar-Kultur. (S. 231.)

Fig. 59. Oidien aus einer 60 Stunden alten Kartoffelkultur. (S. 232.)

Fig. 60. Oidien aus einer 8 Stunden alten Dextroseagar-Kultur in Wasser mit Tuschezusatz. (S. 230.)

Fig. 61. Oidien aus einer 8 Stunden alten Dextroseagar-Kultur, gefärbt mit Sudan. (S. 230.)

Fig. 62. Oidien von Bac. ruminatus aus einer 8 Stunden alten Dextroseagar-Kultur, gefärbt mit Sudan. (S. 235.)

Plasmolytische Versuche.

Fig. 63—64. Aspergillus niger (20 Stunden alte Dextroseagar-Kultur) fixiert mit Osmiumsäure, gefärbt mit Methylenblau 1 + 10. Vergr. 1 : 900. (S. 197)

(Fig. 63. Vakuolenreiche Hyphe.
Fig. 64. Reservestoffreiche Hyphe.)

Fig. 65—66. Aspergillus niger (aus derselben Kultur) plasmolysiert mit zehnproz. Kochsalzlösung, fixiert mit Osmiumsäure, gefärbt mit Methylenblau 1 + 10. Vergr. 1 : 900. (S. 197.)

(Fig. 65. Vakuolenreiche Hyphe.
Fig. 66. Reservestoffreiche Hyphe.)

Fig. 67. Bac. oxalaticus, gefärbt mit Methylenblau 1 + 10, behandelt mit 95-proz. Alkohol (aus 15 Stunden alter Kultur). Vergr. 1 : 2250. (S. 199.)

Fig. 68—70. Bac. amylobacter (aus 16 Stunden alter Kultur). Vergr. 1 : 2250. (S. 198.)

(Fig. 68. Ungefärbt, a) bei tiefer, b) bei hoher Einstellung.
Fig. 69. Gefärbt mit Jod-Jodkalium.
Fig. 70. Gefärbt mit Methylenblau 1 : 10.)

Fig. 71—73. Bac. fluorescens (16 Stunden alte Dextroseagar-Kultur). Vergr. 1 : 2250. (S. 198, 199 u. 200.)

(Fig. 71. Fixiert mit Formol, gefärbt mit Methylenblau 1 + 10.

Fig. 72. Behandelt mit zehnproz. Kochsalzlösung-Formol-Jodjodkalium-Methylenblau 1 + 10.)

Fig. 73. Behandelt mit Methylenblau 1 + 10- 95-proz. Alkohol-Jod-Jodkalium-Methylenblau 1 + 10.

Fig. 74. Spirillum volutans (aus 15 Stunden alter Dextroseagar-Kultur) behandelt mit zehnprozentiger Kochsalzlösung. Vergr. 1 : 2250. (S. 199.)

Vergleich zwischen Myxobakterien und Akrasieen.

Fig. 75. Stäbchen von M. ruber (30 Stunden alter Kaninchenmistagar 10 + 100 — Kultur). Vergr. 1 : 2250.

Fig. 76. Amöbe von Polysphondylium violaceum. Vergr. 1 : 2250.

Fig. 77. Spore von Polysphondylium violaceum, beh. mit Chloralhydrat. Vergr. 1 : 2250. (S. 207).

Fig. 78. Spore von Polysphondylium violaceum, beh. mit zehnprozentiger Kochsalzlösung. Vergr. 1 : 2250. (S. 207).

Spirillum rubrum und Spirillum volutans.

Fig. 79. Oidien von Sp. rubrum gef. mit Methylenblau 1 + 10. Vergr. 1 : 2250. (S. 239).

Fig. 80. Oidium von Sp. rubrum gef. mit Karbolfuchsin. Vergr. 1 : 2250. (S. 239).

Fig. 81. Oidien von Sp. rubrum von Agar ohne Dextrose. Geißelfärbung. Vergr. 1 : 2250. (S. 239).

Fig. 82. Oidien von Sp. rubrum mit Schwefelkörnchen. Vergr. 1 : 2250. (S. 245).

Fig. 83. Aus 10 Tage alter Bouillonkultur (Zimmertemp. 5 Atm. Luft). stammendes Oidium von Sp. volutans. Vergr. 1 : 2250. (S. 253).

Fig. 84. Aus 10 Tage alter Agar- ohne Dextrose-Kultur stammendes Sp. volutans Oidium (Zimmertemp. Normaler Luftdruck.) Vergr. 1 : 2250.

Nachdruck verboten.

Unbekannte Krankheiten an Kulturpflanzen und deren Ursachen.

I.

1. Die Bakterienkrankheit bei Levisticum officinale Kch., verursacht durch Pseudomonas Levistici nov. spec.
2. Die Phytophthora-Krankheit bei Calceolaria rugosa (hort.), verursacht durch Phytophthora omnivora De Bary.
3. Die Sclerotinia-Krankheit bei Omphalodes verna Mnch., verursacht durch Sclerotinia Libertiana Fuck.
4. Die Nematodenkrankheit bei Chelone glabra L. und Chelone barbata, verursacht durch das Stengelälchen, Tylenchus devastatrix Kühn.

Von Dr. **A. Osterwalder.**

[Aus der Schweiz. Versuchsanstalt für Obst- Wein- und Gartenbau in Wädenswil (Schweiz). Abteilung für Pflanzenphysiologie und Pflanzenpathologie].

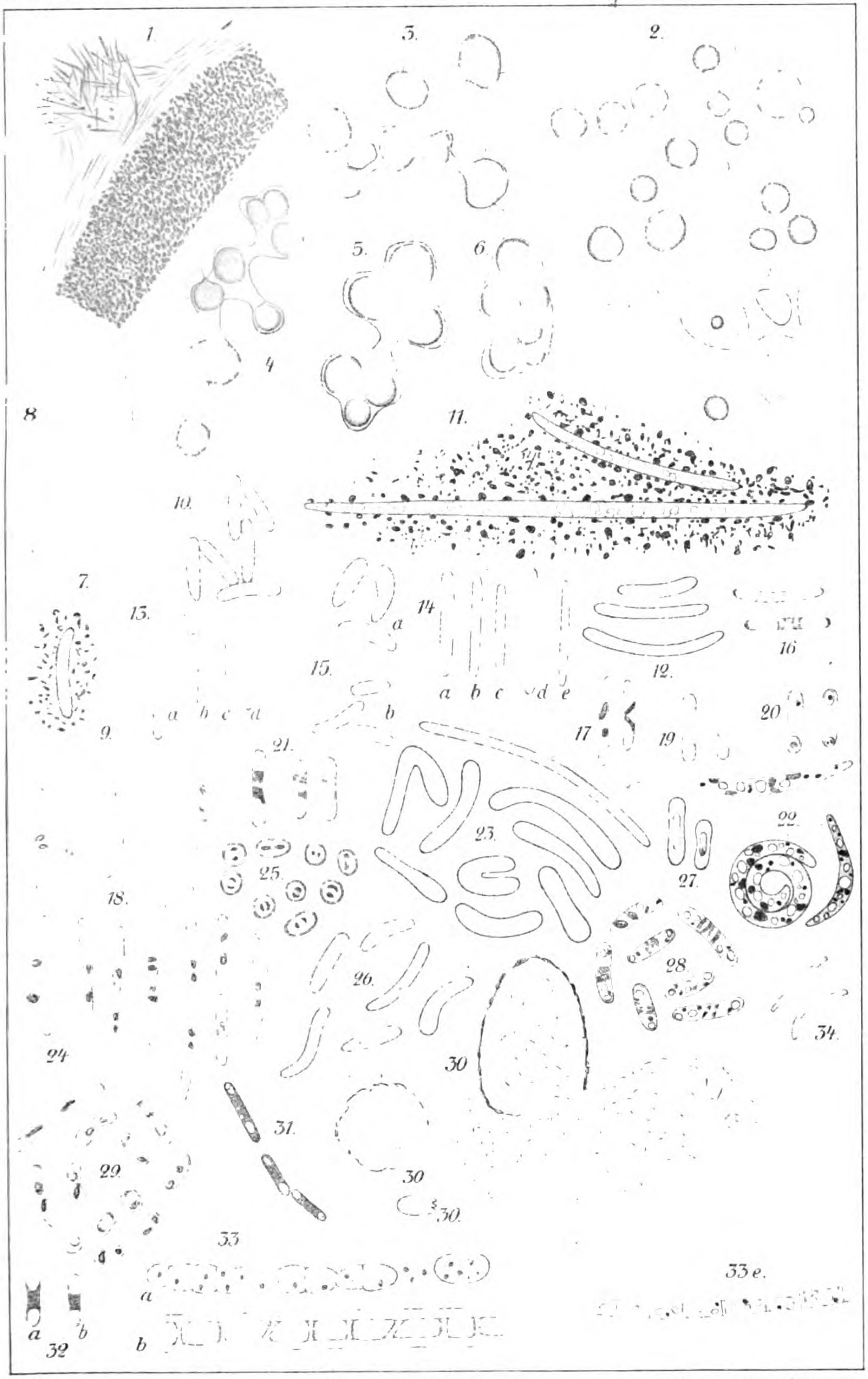
Mit 2 Tafeln

1. Die Bakterienkrankheit bei Levisticum officinale Kch., verursacht durch Pseudomonas Levistici nov. spec.

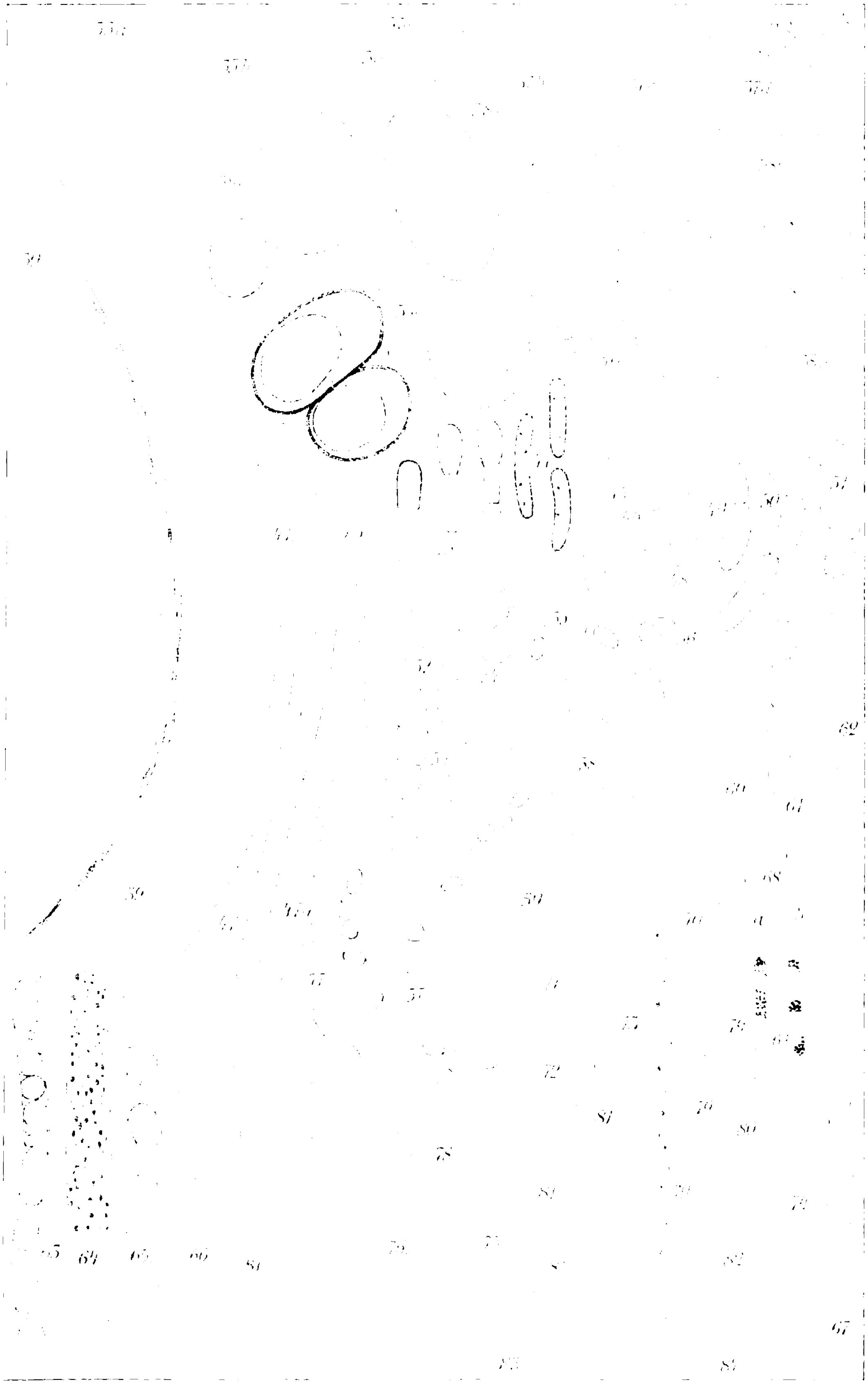
Die Bakterienkrankheit bei Levisticum officinale Kch., dem Liebstöckel, tritt seit einer Reihe von Jahren namentlich an einem von zwei getrennt kultivierten Stöcken im Garten der Versuchsanstalt auf. Der Schaden, der dadurch angerichtet wurde, ist also kein nennenswerter und erstreckt sich nur auf die während des größten Teils der Vegetationsperiode andauernde in den verschiedenen Jahrgängen mehr oder weniger starke Schädigung von Blättern und Stengeln. Wenn wir trotzdem dieser Krankheit unsere Aufmerksamkeit zugewendet haben, so geschah es, weil sie zu den sogenannten

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Centralblatt f. Bakteriologie Abt. II Bd. 25. Vahle, Myxobakteriaceen u. Bakteriaceen. Taf. I.


1.
3.
2.
4
5.
6.
8
11.
10.
7.
13.
14
a
a b c d e
12.
16
15.
b
a b c d
9.
17
19
20
21.
22.
23.
25.
27.
18.
26.
28.
24
34.
30
31.
29.
30
30.
33
a
b
33 e.
a b
32

Vahle gez. Verlag v. Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.


50
62
60
61
68
56
59
70
57
72
87
76
80
78
81
79
63
64
65
66
67
82
83
84

Bakteriosen gehört und diese Krankheiten bekanntlich in wissenschaftlichen Kreisen noch nicht überall unbestritten als solche anerkannt werden. Da kann es nur erwünscht sein, die eben doch noch geringe Zahl von Pflanzenkrankheiten bakterieller Natur, bei denen künstliche Infektionsversuche ausgeführt wurden und gelangen, noch zu vermehren, um dadurch ein immer deutlicheres überzeugenderes Bild dieser Krankheiten und ihrer Erreger erstehen zu lassen.

Die Krankheit tritt, wie bereits erwähnt, an Blättern, Blattstielen und Stengeln auf, in manchen Jahrgängen schon früh, in anderen später; 1908 beobachteten wir sie zuerst am 15. Mai, 1909 erst am 15. Juni; es treten auf der Blattspreite kleinere braune etwas eingesunkene Flecken von unregelmäßiger Form auf, oft deren in großer Zahl, die sich weiter ausdehnen, zusammenfließen, so daß größere Partien der Blattfiedern abdorren; (Fig. 1 Taf. 1) um die Flecken herum tritt eine schmale Zone weit eine hellgelbe Verfärbung auf. Das mikroskopische Bild eines Schnittes durch jüngere kleine Flecken zeigt folgendes: Die einzelnen Zellen der betreffenden Stelle des Blattgewebes sind mehr oder weniger stark gebräunt, d. h. ihre Chlorophyllkörner sind gelbbraun verfärbt; in einzelnen Zellen mag ihre Form noch deutlich zu erkennen sein; in anderen mehr alterierten Zellen dagegen bilden sie eine formlose gelbbraune Masse. Ferner fällt auf, wie im Palissadengewebe manche Zellen auf ihrer Längsseite sich von den benachbarten gelöst haben. Von Pilzmycel ist nichts zu sehen; dagegen fallen einem bald schleimige zusammenhängende zoogloeenartige Massen von Bakterien auf, die aus den Zwischenzellräumen austreten, namentlich an der Peripherie der Flecken, wo das kranke braungelbe Gewebe in das gesunde Blatt übergeht, während im abgestorbenen inneren Teil die Flecken arm an Bakterien sind. Die in das Wasser austretenden oft schlierenbildenden Bakterienmassen lösen sich im Wasser bald auf und die einzelnen Bakterien werden deutlicher und manche davon beginnen in kurzer Zeit lebhaft zu schwärmen. So wiederholt sich das Bild immer wieder an den verschiedenen Schnitten der verschiedenen Jahrgänge; nie hatten wir in jüngeren Flecken in der Zone, wo die Krankheit fortschreitet irgend einen Pilzfaden entdecken können oder vielleicht einen tierischen Feind. Verschieden vom Krankheitsbild der Blätter ist dasjenige am Blattstiel und Stengel, wo lange schmale, braungelbe bis schwarze Streifen auftreten zwischen den schwach hervortretenden Rippen, (Fig. 2, Taf. I) in denen stark verdickte Collenchymstränge verlaufen, die den Bakterien genügend Widerstand leisten und nicht zerstört werden. Es können 4—5 und noch mehr benachbarte Streifen oder Zwischenrippenstücke erkranken auf eine Länge von 30 und noch mehr cm. oder auch nur vereinzelte am Stengelumfang zerstreute. Zwischen den Collenchymsträngen dehnen sich direkt unter der mit Spaltöffnungen versehenen Epidermis mehrere chlorophyllhaltige Zellschichten aus, das Chlorophyllparenchym; unter diesem ca. vier Zellschichten starken Gewebe sodann findet sich farbloses parenchymatisches Gewebe, in dem die Fibrovasalstränge eingebettet sind. Auf dem Querschnitt des erkrankten Blattstiels und Stengels nun fällt einem die Braunfärbung der Epidermis und des Chlorophyllparenchyms zwischen den Collenchymsträngen auf, sowie die gelbliche Verfärbung der dem Chlorophyllparenchym benachbarten Partien des Collenchyms. Nicht selten hat sich das subepidermale abgestorbene und zusammengesunkene Gewebe von der Epidermis gelöst (siehe Fig. 8, Taf I), wodurch unter der Epidermis größere Lakunen entstehen. Diese Lakunen enthalten meist größere Bakterienansammlungen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Bakterienmassen treten auch aus den verschiedenen Interzellularräumen, die sich bei mikroskopischen Schnitten rasch über die umgebenden Zellen ausbreiten. Auch diese Bakterien schwärmen nach kurzer Zeit. Das Aussehen derselben, ihre Schwärmbewegung, sowie der Umstand, daß gelegentlich Flecken an der Blattfiedernbasis mit braunen Striemen des Blattstiels in Zusammenhang stehen, weisen darauf hin, daß die Schäden an Blatt und Stengel demselben Organismus zuzuschreiben sind. Es möge hier noch bemerkt sein, daß wir im tiefer liegenden unter dem Chlorophyllparenchym befindlichen farblosen Parenchym sowie im Fibrovasalbündel nie Bakterienmassen angetroffen haben.

Die mit Bakterien aus einzelnen mikroskopischen Schnitten hergestellten Plattenkulturen mit 15-proz. Gelatine, der ca. 6 Proz. Levisticum Blattstiel- und Stengelauszug zugefügt wurde, fielen mit Ausnahme vereinzelter Kolonien sehr homogen aus, was darauf hinwies, daß die im Blattgewebe sich aufhaltenden Bakterien in der erwähnten Nährgelatine leicht fortkamen; ebenso ließen sich dann auch die rein gezüchteten Bakterien in dem Blattstielauszug kultivieren, wo sie, sofern die Fläschchen eine Zeit lang standen, an der Oberfläche eine Decke bildeten ähnlich einer Kahmhefe an der Oberfläche eines Weines, die bei der leisesten Berührung zu Boden sank. Die Bakterien aus solchen jungen Kulturen schwärmten unter dem Mikroskop lebhaft. Im mit Fuchsin gefärbten Zustand sodann ließen sie deutlich erkennen, daß meist zwei Individuen mit einander verbunden waren. Um die Geißeln sichtbar zu machen, verfuhren wir nach Löfflers Vorschriften, was uns meist zum Ziele führte. Das eine Ende des fast kokkenähnlichen Kurzstäbchens ist abgerundet, verschmälert sich etwas und endigt in eine Geißel. Da meistens zwei Bakterien zusammenhängen, sind die beiden Enden etwas verschmälert und begeißelt. Länge und Breite von unserem Organismus variieren stets etwas, je nach dem Nährsubstrat. Wir maßen bei Bakterien aus Blattstielauszug 1,1—1,5 μ Länge und 0,7—1,1 μ Breite. Direkt dem Blatt entnommene gefärbte Bakterien wiesen durchwegs etwas geringere Dimensionen auf: 1,1—1,5 μ Länge und 0,5—0,7 μ Breite.

Zum Studium der Bakterien auf festen Nährböden verwendeten wir 15-proz. Gelatine mit 6 Proz. Levisticum-Blattstielauszug und Agar mit demselben Zusatz von Extrakt. Auf beiden Nährböden wuchsen die Bakterien bei Zimmertemperatur sehr rasch. So konnten wir bei Plattenkulturen mit Nährgelatine schon am 2. Tage nach der Aussaat weißliche, gelblichweiße Kolonien mit kreisförmigem und elliptischem Rand und 14 μ bis 100 μ Durchmesser (bei zusammengesetzten Kolonien) konstatieren. Im Verlauf von 8 Tagen zeigten sodann die Kolonien ein verschiedenes Verhalten. Die sog. Tiefenkolonien, deren ca. 200—300 in der Schale wuchsen, waren kugelig und linsenförmig, gelblich beim durchfallenden Licht und oft einen konzentrischen Kreis im Innern aufweisend. Durchmesser einer solchen kugeligen Tiefenkolonie nach 8 Tagen z. B. 245 μ, der Durchmesser des inneren konzentrischen Kreises 115 μ. Der Rand derselben ist glatt. Die Tiefenkolonien haben die Gelatine nicht verflüssigt. Anders die Oberflächenkolonien, deren wir in derselben Schale 14 zählten, die bedeutend größer (1 Kolonie nach 8 Tagen z. B. mit 1078 μ Durchmesser), weißgrau beim durchfallenden Licht waren und die Gelatine verflüssigten, so daß die ganze kompakte Masse der Kolonien schalenförmig einsank mit mehr oder weniger schwach gebuchtetem Rand. (Fig. 4, Taf. I). Mit der Lanzettnadel kann die zusammenhängende Kolonie in toto aus der Gelatine gehoben werden.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Was die Strich- und Stichkulturen auf Gelatine und Agar anbetrifft, so fällt auch hier das rasche Wachstum bei Zimmertemperatur auf. Schon am 2. Tage nach der Impfung waren deutliche wenn auch noch dünne Striche und Stiche zu erkennen, wie wir solche z. B. bei den im hiesigen Laboratorium aus Weinen rein gezüchteten Milchsäurebakterien erst nach ca. 14 Tagen erhalten. Innerhalb 6 Tagen schon begannen die Strich- und Stichkulturen die Gelatine zu verflüssigen. Bei den Strichkulturen war nach 6 Tagen eine ca. 1—2 mm breite und etwa 1 mm tiefe Rinne an der Gelatineoberfläche verflüssigt und bei den Stichkulturen eine ca. 2 mm tiefe und ca. 2 mm breite Mulde an der Oberfläche des Stiches. Bei den Strichkulturen zeigten die Bakterien nach der Gelatine hin, auf der Innenseite der Rinne, d. h. deren Boden, ein bürstenartiges Wachstum und erinnerten in dieser Hinsicht an das Wachstum von Saccharomyces Pastorianus Rassen auf Gelatine. Die Gelatine Strichkultur ist weiß und am Rande unregelmäßig gelappt. Bei den Stichkulturen wachsen die Bakterien unterhalb der verflüssigten Mulde als ca. 4 cm langes Band, das nach unten in eine feine perlschnurartige Linie ausmündet. Bei 25 Tage alten Kulturen ist die Rinne ca. 8 mm breit; die Bakterienkultur ist hinuntergerutscht und hängt oft noch bandwurmartig zusammen. Bei den gleich alten Gelatinestichkulturen zeigt sich oben ein durch die Verflüssigung der Gelatine entstandenes scheidetrichterartiges ca. 2 cm tiefes Loch. Auf Nähragar ist das Wachstum in den Strich- und Stichkulturen ein intensiveres als auf Gelatine. Nach 6 Tagen besitzt der ca. 5 mm breite Strich einen unregelmäßig gebuchteten Rand, der schleimig ist, während der mittlere Teil des Striches gefältelt aussieht und eine rauhe Oberfläche besitzt. Das Kondenswasser mit Bodensatz ist klar. Bei den Agarstichkulturen bilden die Bakterien in dieser Zeit an der Oberfläche eine Haut, die in einzelnen Röhrchen fast die ganze Oberfläche überzogen und stark runzelig ist, ähnlich der Kahmhaut des Weines. Das Wachstum unterhalb dieser Haut ist ca. 1—2 cm tief ein allseitiges, drüsenartiges, um dann tiefer in einer Reihe isolierter Kolonien perlschnurartig zu werden. Nach 25 Tagen bieten diese Agarkulturen kein wesentlich verändertes Bild; dagegen sieht man in den Stich- und Strichkulturen an verschiedenen Stellen auf der Kultur oder unterhalb derselben im Agar Kristalldrusen.

Als Kulturflüssigkeit verwendeten wir neben dem Levisticumauszug auch Peptonlösung aus 15 gr Pepton (Witte) und 8 gr NaCl pro Liter. Die Flüssigkeit blieb klar; an der Oberfläche bildeten sich wie beim Levisticumauszug flockige, kahmartige Häute, die bei leiser Erschütterung zu Boden sinken. Der Bodensatz ist stark flockig. Ca. 8—14 Tage alte Bakterienkulturen in diesem Peptonwasser zeigten nach Zusatz der vorgeschriebenen Mengen Schwefelsäure und Natriumnitrit in kurzer Zeit karminrote Färbung, was auf Bildung von Indol hinweist. Bei den Kontrolproben ohne Bakterien trat keine Rotfärbung auf. Die Reaktion auf Schwefelwasserstoff fiel negativ aus; dagegen ließ sich in den verschiedenen Kulturmedien stets Alkalibildung nachweisen; so reagiert der Nähragar nach dem Wachstum der Bakterien immer stark alkalisch, ebenso die oben erwähnte anfänglich neutrale Peptonlösung, dann der zuerst schwach sauer reagierende Levisticumauszug. 10 ccm unseres Levisticumauszuges erforderten zur Neutralisation 0,2 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. Dieselbe Menge Auszug mit einer 16 Tage alten Bakterienkultur erforderte 1 ccm $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure. Nach der Gramschen Methode färben sich die Bakterien nicht. Sporen konnten nicht nachgewiesen werden.

Halten wir uns an das System Migula, so müssen wir unseren Organismus zu der Gattung Pseudomonas zählen, die ja bereits eine Anzahl pflanzenpathogener Vertreter stellt. Wir erinnern nur an Pseudomonas campestris (Pammel), nach E. Smith Erreger der Schwarznervigkeit des Kohls und verwandter Kruziferen; Pseudomonas hyacinthi Wakker, Erreger einer Hyacinthenkrankheit; Pseudomonas phaseoli E. Smith, Ursache einer Bohnenkrankheit; Pseudomonas Stewarti E. Smith, Erreger einer Maiskrankheit; Pseudomonas vascularum Cobb., Ursache der Gummikrankheit beim Zuckerrohr; Pseudomonas destructor Potter, Erreger der Weifäule bei weißen Rüben; Pseudomonas iridis van Hall, welches Bacterium bei Rhizomen und jungen Trieben von Iris florentina und Iris germanica eine Krankheit verursacht, Pseudomonas syringae van Hall, Ursache einer Fliederkrankheit. An Bakteriosen bei Umbelliferen sind bislang bekannt: Eine Möhrenkrankheit, bei welcher die in das Winterlager gebrachten Mohrrüben in kurzer Zeit faulen, verursacht durch Bacillus carotovorus Jones, der 2—5 peritriche Geißeln besitzt, 1,5—5 μ lang ist, nach der Gramschen Methode die Färbung festhält und deshalb auch nicht unser Pseudomonas sein kann, ferner eine Selleriebakteriose, bei der ein Bacillus Apii (Brizi) Migula isoliert wurde, der ein sehr bewegliches an den Enden verzweigtes Stäbchen von 2—2,5 μ Länge ist, die Gelatine nicht verflüssigt und zudem mangels an Infektionsversuchen nicht einmal als sicher pathogen betrachtet werden kann. Was die bisher bekannten pathogenen Pseudomonas-Arten anbetrifft, so geht aus deren Beschreibungen, die uns mit Ausnahme von Pseudomonas phaseoli und Pseudomonas vascularum alle zugänglich waren, hervor, daß kein einziges mit dem unsrigen, das wir **Pseudomonas Levistici** nennen wollen, identisch sein kann. Bei den einen (Ps. campestris, Ps. destructor, Ps. syringae) stimmen die Größenverhältnisse nicht überein, bei den andern (Ps. hyacinthi, Ps. Stewarti und Ps. iridis) haben wir es mit Arten zu tun, die die Gelatine nicht verflüssigen.

Bei den Infektionsversuchen, die wir bei dem einen noch gesunden Exemplar von Levisticum officinale im Sommer 1908 mit flüssigen Kulturen von Pseudomonas Levistici ausführten, blieb der Erfolg nicht aus; immerhin gelangen nur die Wundinfektionen und auch diese nicht durchwegs. Wir schreiben aber die wenigen Mißerfolge bei den Wundinfektionen mehr den meteorologischen Verhältnissen zu, die insofern ungünstig waren, als bei der Impfung und auch nachher andauernd sonnige trockene Witterung herrschte, so daß die Tröpfchen Impfflüssigkeit, die wir mit einer feinen Kapillare in die schwach geritzten Wunden brachten, schnell eintrockneten trotz der Umhüllung des Stockes mit Emballagetuch, das wir, so gut es ging, naß zu halten suchten. Nach einigen Tagen erkrankte an einer Reihe von Wundstellen das Gewebe; nach 10 Tagen wies z. B. ein künstlich infizierter Blattstiel drei ca. 20 cm lange braunschwarze Streifen auf, die, was zunächst das äußere Krankheitsbild anbetrifft, sich nicht von den spontan erkrankten unterschieden. Zu bemerken ist noch, daß die Erkrankung von oben nach unten (in der Richtung des Pfeiles in der Fig. 3, Taf. I) fortschritt. Das unter der Epidermis zwischen den Collenchymsträngen sich befindliche Chlorophyllparenchym war gebräunt; zwischen den erkrankten Zellen, dann namentlich auch unter den Spaltöffnungen in den Atemhöhlen, waren Haufen von Bakterien zu finden, die in kurzer Zeit zu schwärmen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

begannen. Diese Wundinfektionen, sowie die Tatsache, daß in den erkrankten Flecken und Striemen des Blattstiels und Stengels die Bakterien vornehmlich gegen das gesunde Gewebe sich aufhalten zwischen Zellen, die noch wenig alteriert und noch nicht abgetötet sind, weisen doch darauf hin, daß wir es hier mit einem pathogenen Organismus zu tun haben, einem Organismus, dem die pathogene Eigenschaft ebensowenig abgesprochen werden kann, wie einer Nectria ditissima oder Monilia fructigena, die ebenfalls, durch Wundstellen eingedrungen, lebendes Gewebe zerstören. Trotz Mißlingens der Infektionsversuche mit Bakterien an unverletzten Organen neigen wir doch zu der Ansicht, daß auch ohne Verletzung Infektionen erfolgen können. Gerade dieses Jahr haben wir die Beobachtung machen können, wie die Krankheit nach intensiverem Platzregen, durch den namentlich die unteren Blätter der Pflanzen mit zahlreichen Erdpartikelchen besonders auf der Unterseite bespritzt wurden, ganz besonders stark an diesen beschmutzten Blättern auftrat. Da kaum anzunehmen ist, daß die betreffenden Blätter mit den zahlreichen Infektionsstellen so viele verletzte Stellen aufweisen, ist wohl die Ansicht berechtigt, daß die Bakterien durch die Spaltöffnungen einzudringen vermögen. Darauf hin deutet auch die mehrfach gemachte Beobachtung, daß bei jüngeren, spontan auftretenden Infektionen direkt unter den Schließzellen der Spaltöffnungen die Bakterien zahlreich vorhanden waren. Darauf hin weist ferner die Erscheinung, daß auch gesunde Stengel und Blattstiele, an denen keine Verletzungen zu erkennen sind, erkranken. Auch hier werden die Bakterien durch die Stomaten eindringen. Selbstverständlich werden auch z. B. durch Schnecken oder Raupenfraß usw. verursachte Verletzungen von den Bakterien als Eingangspforten benutzt werden.

Impfversuche, die wir mit Kulturen von Pseudomonas Levistici bei Tomaten (Blättern, Stengel und Früchten) sowie bei Kohlpflanzen ausführten, fielen negativ aus.

2. Die Phytophthora Krankheit bei Calceolaria rugosa, (hort.) verursacht durch Phytophthora omnivora De Bary.

Von größerer Bedeutung als die oben beschriebene Bakteriose ist die Phytophthora-Krankheit bei Calceolaria rugosa (hort.), indem uns Fälle bekannt sind, wo in schweizerischen Herrschafts- und Handelsgärtnereien, wo die genannte Pflanze gegenwärtig häufig als Gruppen- und Topfzierpflanze gehalten wird, zu Hunderten in einem Sommer in Folge dieser Krankheit eingingen. Beim Auftreten der Krankheit macht sich immer zunächst am untern Stengelteil, da, wo er das Erdreich verläßt, eine Bräunung bemerkbar, die in das Innere dringt und sich immer weiter nach oben und unten ausdehnt, bis Welkungserscheinungen eintreten und schließlich das Absterben der erkrankten Pflanzen erfolgt. Die gebräunten Stengelteile sind von Pilzfäden durchwuchert, das Mark, das einen größeren Teil des Stengelquerschnittes einnimmt, sowohl als auch Gefäßbündel und Rinde. Das Mycel ist nicht septiert, dringt ins Innere der Zellen ein, was namentlich beim Mark deutlich zu sehen ist. Auf nassem Filtrierpapier in feuchten Kammern bilden stark befallene ältere Stengelstücke schon über Nacht Konidien oder Zoosporangien, die sich als zu der Spezies Phytophthora omnivora zugehörig erwiesen. Wir maßen Konidien von 14 μ Länge bis 50 μ; unterhalb der Konidien zweigt oft ein neuer Konidienfaden mit Konidien ab, ganz ähnlich wie wir das seinerzeit bei der Phytophthora omnivora konstatiert haben, die sehr frühzeitig im Sommer besonders nach starken Regengüssen, bei verschiedenen Kernobstsorten Fäulnis erzeugt[1]).

Wir züchteten den Pilz aus dem erkrankten Stengelgewebe als Reinkultur, kultivierten ihn außer auf 15-proz. Gelatine mit Extrakt aus Calceolaria Stengeln auch auf 15-proz. Gelatine mit 7-proz. weißem Traubensaft, wo er ganz leicht fortkommt und ein ganz intensives Wachstum zeigt. Mit einer Reinkultur auf Gelatine impften wir junge, noch unreife Äpfel der Sorte Charlamowsky am 25. Juli 1908, die wir seinerzeit als sehr disponiert für die Phytophthorafäule gefunden hatten. In der Tat trat an den verwundeten Stellen der Äpfel nach wenigen Tagen Fäulnis ein, die schließlich den ganzen Apfel ergriff und durch Phytophthora omnivora verursacht war. Mit einer Reinkultur auf Gelatine stellten wir ferner Impfversuche mit 2 ca. 15 cm hohen jungen Stecklingspflanzen an, bei denen wir ein kleines Stück Gelatine mit Mycel auf den untern, dem Erdreich entsteigenden Stengelteil brachten, der bei der einen Pflanze an der Impfstelle mit der Nadel leicht verletzt wurde. Sämtliche drei Pflanzen (1Kontrollpflanze) wiesen übrigens im untern Stengelteil größere Längsrisse in der Rinde auf, wie dies bei Calceolarien oft vorkommt; in Anbetracht dieses Umstandes wird man wohl auch die zweite künstlich infizierte Pflanze als verletzt ansehen und den Versuch als Wundinfektionsversuch bewerten müssen. Die Infektion geschah am 10. Juni 1908. Die betreffenden Pflanzen (mit der Kontrollpflanze) wurden unter innen feucht gehaltene und unten etwas geöffnete Glasglocken gebracht. Schon am 14. Juni trat an der Infektionsstelle der verletzten wie unverletzten Pflanze eine deutlich sichtbare Bräunung auf, die bei der unverletzten Pflanze bis zum 16. Juni 4—5 cm weit nach oben sich ausdehnte, bei der verletzten 2—3 cm weit. Am 17. Juni hingen bei der unverletzten Pflanze bereits zwei Seitenzweige welk herunter. Am 22. Juni sind die beiden infizierten Pflanzen total welk, wie die Abbildung 1 auf Tafel II zeigt.

Auch in die Wurzeln vermag der Pilz zu wachsen, die dadurch gebräunt und abgetötet werden. Oogonien und Oosporen sind uns wenig zu Gesicht gekommen; einzig da, wo wir die infizierten Stengelstücke stark feucht hielten beobachteten wir im Rindenteil wiederholt solche. Es ist also die Bildung dieser Fortpflanzungsorgane bei den Calceolarien nicht ausgeschlossen, wenn sie auch vielleicht nicht so häufig auftreten, wie bei den Buchenkeimlingen oder beim phytophthorafaulen Kernobst. Sie werden auch bei der Ausbreitung der Krankheit eine Rolle spielen. Aus allen Beobachtungen die wir in dieser Beziehung machten, sowie auch aus diesbezüglichen Mitteilungen von Gärtnern geht hervor, daß die Krankheit durch die Erde verschleppt wird. So schreibt ein Gärtner, daß im ersten Jahre im Kasten, in dem er eine größere Anzahl Calceolarien kultivierte, 10 zurunde gingen, während im darauffolgendem Jahre in demselben Kasten ca. 100 an der genannten Krankheit eingingen. Ferner spricht für die erwähnte Ansicht auch der Umstand, daß die Pflanzen manchmal erst dann erkranken, wenn sie auf die Gruppe gebracht werden, also in anderes Erdreich gelangen. Wir haben in unserer Mitteilung über die Phytophthorafäule beim Kernobst geäußert, wie diejenigen Früchte, die mit dem Erdreich in Berührung kommen, sei es direkt oder in Folge eines Platzregens, am meisten von der Phythophthora befallen werden; auch dort müssen wir annehmen, daß der Pilz durch Oosporen aus der Erde auf die Früchte gelangt. Ähnlich wird es hier sein; die erwähnten Risse an der Stengelbasis bilden für den Pilz geeignete Eingangsstellen. In Gärtnerkreisen selbst hat man die Krankheit schon ungeeigneter Kultur der betreffenden Pflanzen zuschreiben wollen. Wir haben uns aber selbst davon überzeugen können, daß die Krankheit auch solchen Gärtnern zu schaffen macht, denen die Kultur der Calceolarien nicht fremd ist. Sodann spricht auch unser Infektionsversuch, wo zwei gesunde normale Pflanzen in kurzer Zeit vom Pilz getötet wurden, sehr gegen diese Ansicht.

---

[1]) Die Phytophthorafäule beim Kernobst. (Dieses Centralblatt Bd. 15. p. 435.)

3. Die Sclerotinia-Krankheit bei Omphalodes verna Mnch., verursacht durch Sclerotinia Libertiana Fuck.

In einem Garten, wo Omphalodes verna als Einfassungspflanze dient und die einzelnen Pflanzen dicht beisammen stehen, tritt jedes Frühjahr nach nasser Witterung Sclerotinia Libertiana verheerend auf, indem Blätter und Stengel vom Pilz befallen und abgetötet werden. Konidiensporen treten keine auf, dagegen bilden sich am Stengel die bekannten, zuerst weißen, dann schwarzen Sclerotien, die im Sommer sich lösen und zur Erde fallen. Die Krankheit breitet sich durch das Mycel aus, Wo Blätter oder Stengel mit infizierten Pflanzenteilen in Berührung kommen, werden sie von der Krankheit befallen, wie dies z. B. der Fall ist, wo eine gesunde Frucht eine moniliakranke berührt, die noch kein Konidiensporen ausgebildet hat. In Töpfen mit Lauberde gesammelte Sklerotien bildeten im folgenden Frühjahr Apothecien, die zu Sclerotinia Libertiana gehören. Durch weniger dichtes Pflanzen von Omphalodes verna kann der Krankheit vorgebeugt werden.

4. Die Nematodenkrankheit bei Chelone glabra L. und Chelone barbata, verursacht durch das Stengelälchen, Tylenchus devastatrix Kühn.

Durch das Stengelälchen, Tylenchus devastatrix Kühn, verursachte Krankheiten sind zwar schon wiederholt bei verschiedenen Kulturpflanzen beschrieben worden. Wenn wir uns die Mühe nehmen, einen neuen Fall zu beschreiben, so geschieht es, weil die durch Tylenchus devastatrix hervorgerufenen Mißbildungen immer ein gewisses Interesse beanspruchen sowohl vom anatomischen wie physiologischen Standpunkt aus und sich in dieser Beziehung von den durch das Blattälchen, Aphelenchus olesistus Ritz. Bos entstandenen Schäden, die mehr oder weniger immer das gleiche Krankheitsbild zeigen, unterscheiden. Wir haben die Krankheit zwar schon einmal erwähnt[1]), als der Schaden noch nicht sehr erheblich war und sich noch keine auffallenden Mißbildungen zeigten. In den letzten Jahren nun sind die von uns beobachteten Gruppen von Chelone glabra stark von den Tierchen heimgesucht worden, die sich ohne Zweifel an die Wirtspflanze noch besser angepaßt und sich stark vermehrt haben, so daß von einer größeren Zahl Pflanzen nur vereinzelte von der Krankheit verschont blieben, während eine ganze Anzahl verkümmerte und andere teilweise geschädigt wurden. Bei den letzteren ist gewöhnlich nur ein einziges Internodium in einer durchschnittlichen Entfernung von ca. 20 cm (Anfang Juli 1909) vom Erdboden erkrankt; es ist bedeutend kürzer als die gesunden, entweder am ganzen Umfang gebräunt oder nur einseitig, während der andere Teil noch gesund und normal aussieht. Die am oberen Ende des erkrankten Internodiums einander opponierten Blätter sind ebenfalls alteriert. Ist das Internodium am ganzen Umfang gebräunt, so sind beide Blätter erkrankt; die betreffenden Blattstiele und deren Fortsetzung, die Hauptnerven, sind braun, dicker als gewöhnlich und besitzen eine mehr oder weniger runzelige Oberhaut; oft dehnt sich die Krankheit noch auf die Blattspreite aus; die Blattbasis wird gefleckt und erinnert mit ihren durch Seitennerven scharf abgegrenzten Flecken an die Blattälchenkrankheit. Ist das Internodium nur einseitig erkrankt, so leidet auch nur das auf jener Seite entspringende Blatt unter dem Parasiten, das gewöhnlich auch noch merklich schwächer entwickelt ist als das opponierte und oft noch infolge der Erkrankung des Blattstiels abwärts gerichtet ist. Die Blätter können sich infolge der mürben Beschaffenheit des Blattstiels auch leicht lösen. Nach unseren Beobachtungen erkranken die Blätter d. h. deren Blattstiel zuerst, von wo aus dann der Parasit sich in das darunter befindliche Internodium ausbreitet, um dann auch die benachbarten Internodien, z. B. bis 5, zu befallen. Ende Mai 1909 haben wir die Krankheit zuerst an einem Blattstiel beobachtet, der auffallend dick war und eine runzelige Oberhaut besaß. Am 8. Juni war das darunter befindliche Internodium schon deutlich infiziert; ebenso zeigte das benachbarte höher gelegene Internodium Spuren des Befalls von Parasiten.

---

[1]) Nematoden an Freilandpflanzen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 12. 1902. p. 338).

Namentlich beim einseitig erkrankten Internodium tritt auf dem Querschnitt in der ungleichen Beschaffenheit des Stengels die Wirkung der Würmer deutlich zutage, indem die erkrankte Hälfte sich durch eine bedeutend dickere Rindenpartie auszeichnet, die auch in anatomischer Hinsicht sich vom gesunden Gewebe unterscheidet. Die Zellen sind größer und durch nochmalige Zellteilungen zahlreicher und bilden also das, was in der Pathologie mit Hyperplasie bezeichnet wird. Sie sind unregelmäßig gestaltet, enthalten kein Chlorophyll, sind bei älteren Stadien der Krankheit gebräunt, weisen große Zwischenzellräume auf, die durch die in denselben sich aufhaltenden und sich vermehrenden Stengelälchen zu größeren Lakunen sich ausdehnen. Dadurch unterscheidet sich das kranke Gewebe wesentlich vom gesunden mit den gleichartigen regelmäßigen Zellschichten mit abgerundeten chlorophyllhaltigen Zellen. Ein Einfluß auf die räumliche Ausdehnung des Gefäßteils ist nicht zu erkennen; dagegen fällt einem auf, daß die den Siebteil scheidenartig umgebenden, der Rinde zugelegenen Sklerenchymfasern im erkrankten Teil lange nicht so zahlreich sind, nur noch sporadisch auftreten und den Siebteil nicht mehr so ausgiebig zu schützen vermögen. Auch der Markteil wird beim weiteren Vordringen der Parasiten von der Krankheit befallen; beim Durchbrechen des stark erkrankten Stengels tritt dessen Bräunung deutlich zutage. Die Tierchen halten sich auch im Mark auf und können auch dieses Gewebe zu einem abnormen Wachstum veranlassen.

Wie bereits erwähnt, halten sich die Stengelälchen hauptsächlich in den Zwischenzellräumen und Lakunen des Rindengewebes auf, wo sie sich ziemlich zahlreich vorfinden, mit Vorliebe direkt unter der Epidermis oder in der Nähe derselben. Im Blattgewebe sind sie ebenfalls leicht zu konstatieren. Daß wir es mit Tylenchus devastatrix zu tun haben, mögen deren Größenverhältnisse in folgenden zwei Beispielen beweisen. Ein weibliches Tier maß 1299 μ Länge, 28,8 μ Breite. Entfernung zwischen weiblicher Geschlechtsöffnung bis zur Hinterleibsspitze 230 μ. Ein männliches Tier z. B. war 1123 μ lang, 27 μ breit. Entfernung zwischen männlichem Geschlechts-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

organ bis zur Schwanzspitze 73 μ. Hautlappen bei der männlichen Geschlechtsöffnung vorhanden.

In den Fällen nun, wo eine einseitige Erkrankung eines oder mehrerer Stengelglieder stattgefunden hat, resultiert aus dem ungleichen Wachstum der betreffenden Partie eine Krümmung, oft derart, daß der Stengel von jener Strecke an eine horizontale Richtung einschlägt, wie aus der Abbildung auf Tafel II ersichtlich ist. Die Krümmung kann noch weiter gehen und geradezu ringförmig werden. In vielen Fällen wird auch das Spitzenwachstum durch tieferliegende erkrankte Internodien beeinträchtigt, so daß dann die in den Blattachseln befindlichen Knospen der Seitentriebe frühzeitig austreiben und sich stärker entwickeln als diejenigen gesunder Stauden. Die erkranktePflanze zeigt dann einen buschigen Wuchs. Auch da, wo wenig hohe jüngere Pflanzen an ihrem apikalen Teil erkranken, treiben die Seitenknospen aus und treten oft an Stelle der deformierten im Wachstum gehemmten Spitzentriebe, wie dies die mittlere Pflanze in der Abbildung zeigt. Ein Absterben und Eingehen der Pflanze findet gewöhnlich nicht statt; ja es können die mit den Stengelälchen behafteten Pflanzen je nach den Witterungsverhältnissen sogar noch zur Blütenbildung schreiten und fruktifizieren. Anhaltend nasse Witterung ist für die Vermehrung der Nematoden sehr günstig; diesen Sommer hat es sich während der langen Regenperiode gezeigt, wie die Bräunung der Stengelglieder rasch fortschritt und die Krankheit an den Blättern sich rasch ausdehnte. Gegen den Herbst hin wandern die Tierchen in den Boden; im September 1907 z. B. haben wir nur ganz wenig Würmer mehr im Stengel gefunden. Daß die Parasiten mit der Erde d. h. mit von Älchen befallenen Überresten der erkrankten Pflanzen in derselben verschleppt werden, dafür spricht auch folgende Beobachtung. Eine Partie einer Chelonegruppe wurde im Herbst davon abgetrennt und mit der am Wurzelstock haftenden Erde in ein ca. 200 m weit davon entferntes, sonst mit Gras bewachsenes Stück Land versetzt. Dieses Frühjahr nun wurden diese Pflanzen ebenso stark von der Krankheit heimgesucht wie diejenigen am alten Standorte.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Pseudomonas campestris nov. spec. erzeugt bei Levisticum officinale Kch. an den Laubblättern Flecken, an den Blattstielen und Stengeln braunschwarze Streifen. Der betreffende Organismus ist 1,1—1,5 μ lang, 0,5—1,1 μ breit, am einen Ende abgerundet und mit einer polaren Geißel versehen. Auf Nährgelatine und Nähragar wächst er schon bei Zimmertemperatur sehr rasch. Er verflüssigt die Gelatine. Im Levisticumstengelauszug bildet er an der Oberfläche eine Haut, ebenso in Peptonlösung. Pseudomonas Levistici bildet Indol, Alkali, dagegen nicht Schwefelwasserstoff. Nach der Gramschen Methode lassen sich die Bakterien nicht färben. Sporen konnten nie nachgewiesen werden.

2. Phytophthora omnivora De Bary tritt bei Calceolaria rugosa (hort) parasitisch auf; die Erkrankung geht von der Stengelbasis aus und dehnt sich bis zum Welken und Absterben der Pflanzen weiter aus.

3. Sclerotinia Libertiana Fuck. kann auch bei Omphalodes verna Mnch. parasitisch auftreten und die betreffenden Pflanzen zum Absterben bringen.

4. Das Stengelälchen, Tylenchus devastatrix Kühn, befällt Chelone glabra und Chelone barbata und erzeugt namentlich bei der ersteren Art eigentümliche Mißbildungen am Stengel.

Tafel-Erklärung.

Tafel I.

Fig. 1. Durch Pseudomonas Levistici erkrankte Blattfieder von Levisticum officinale. Vergr. 1 : 1.

Fig. 2. Durch Pseudomonas Levistici erkrankter Blattstiel. Vergr. 1 : 1. Die punktierten Partien sind erkrankt.

Fig. 3. Künstlich infizierter Blattstiel. Bei × die Infektionsstelle. Die Richtung des Pfeiles deutet die Ausdehnung der Krankheit nach unten an. Vergr. 1 : 5.

Fig. 4. Oberflächenkolonie in Gelatine, 8 Tage alt. Rings um die Kolonie herum ist die Gelatine verflüssigt. Vergr. 1 : 35.

Fig. 5 u. 6. Tiefenkolonien in Gelatine, 8 Tage alt. Vergr. 1 : 70.

Fig. 7. Pseudomonas Levistici nov. spec. Vergr. 1 : 1000.

Fig. 8. Teil eines Querschnittes durch einen erkrankten Stengel. Unter der Epidermis liegt das gebräunte Chlorophyllparenchym.

Tafel II.

Fig. 1. Künstlicher Infektionsversuch bei Calceolaria rugosa. I = Kontrollpflanze, II und III mit einer Reinkultur infizierte Pflanzen.

Fig. 2. Links eine gesunde Pflanze von Chelone glabra, rechts zwei von Tylenchus devastatrix befallene Pflanzen.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Royal Society, London.

Nachdruck verboten.

Über den Einfluß stickstoffbindender Bakterien auf das Wachstum von Pflanzen, welche nicht zu den Leguminosen gehören.

Von **W. B. Bottomley**, London.

Im Verlauf von Untersuchungen über „Kreuzungsimpfungen der knotenbildenden Bakterien von Leguminosen und von Pflanzen, welche nicht zu den Leguminosen gehören[1])“, wurde beobachtet, daß bei allen Kulturen, welche bei der Algenzone der Wurzelknötchen bei den Cycadeen von der unter der Erdoberfläche gelegenen Partie angelegt wurden, Pseudomonas radicicola mit einer Art von Azotobacter vergesellschaftet war.

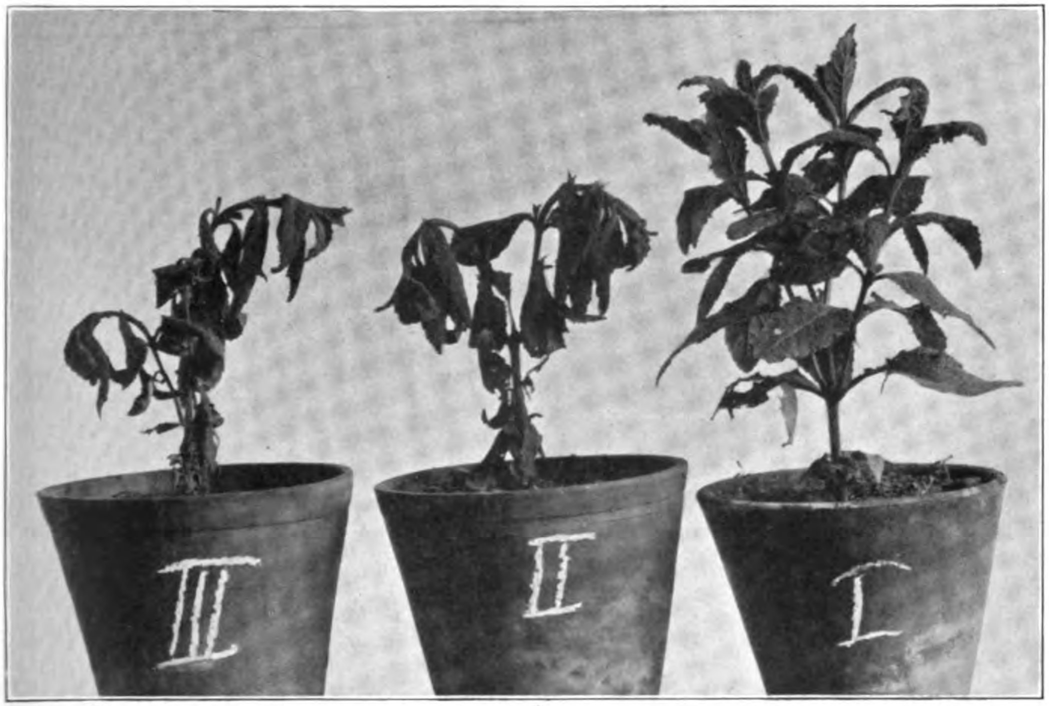
Um festzustellen, ob, und wenn, in wie weit diese Kombination zu einer Steigerung der Fähigkeit, freien Stickstoff zu assimilieren, führte, wurden die beiden Bakterienarten vermittelst des Plattenverfahrens zu Reinkulturen isoliert, und zwar auf einem Nährboden von folgender Zusammensetzung: Maltose 20 g, einbasiges Kaliumphosphat 0,5 g, Kochsalz 0,5 g, Calciumkarbonat 0,5 g, Eisensulphat 0,1 g, Agar 15 g, destilliertes Wasser 1000 g. Es wurden nun von jeder der beiden Bakterienarten Reinkulturen und eine Mischkultur in je zwei Erlenmeyerschen Kolben von 500 ccm Inhalt angelegt. Diese Kolben enthielten je 250 ccm eines flüssigen Nährmediums, das im allgemeinen nach der oben wiedergegebenen Vorschrift hergestellt war, nur war statt des Agars 10 g Mannit zugesetzt. Kontrollkulturen wurden ebenso wie die beimpften Kulturen behandelt.

---

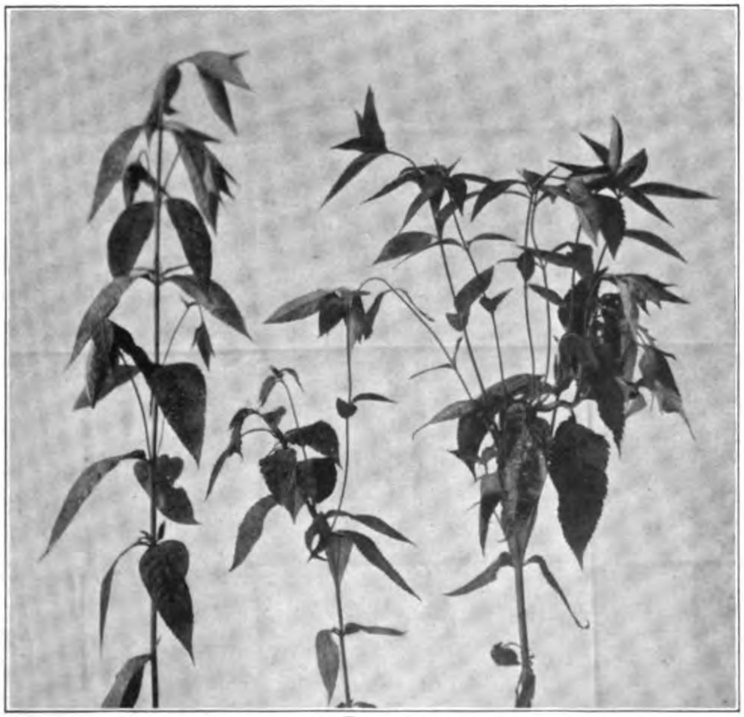
[1]) Report British Association. 1907.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Osterwalder, *Unbekannte Krankheiten an Kulturpflanzen.*



1



2

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Alle Kolben wurden 14 Tage lang bei 24° C bebrütet; dabei wurde dafür gesorgt, daß die Luft in den Kolben von Zeit zu Zeit erneuert wurde; schließlich wurde eine Bestimmung des in dem Flascheninhalt vorhandenen Stickstoffs ausgeführt. Das Ergebnis dieser Analyse war durchschnittlich folgendes:

Kontrolle:	0,48 mg N pro 100 ccm
Pseudomonas allein	0,91 „ „ „ 100 „
Pseudomonas und Azotobacter	1,24 „ „ „ 100 „

Pseudomonas und Azotobacter bilden also eine Kombination, welche Stickstoff kräftig zu binden vermag.

Die Bakterien der Wurzelknötchen bei den Cycadeen leben offensichtlich eingebettet in den Schleim, den sie außerhalb der Rindenzellen in den offenen Räumen der sogenannten Algenzone bilden. Die Rindenzellen, welche bis in diese Zone hineinreichen, saugen vermutlich die stickstoffhaltigen Produkte der bakteriellen Wirksamkeit auf, und auf diese Weise hat die Cycadee einen Vorteil von ihrer Tätigkeit. Wenn nun also die Cycadeenpflanze aus dieser kombinierten Bakterientätigkeit außerhalb der Rindenzelle einen unmittelbaren Vorteil zieht, so lag die Vermutung nahe, daß eine Mischkultur von Pseudomonas und Azotobacter, die man unmittelbar auf die Wurzeln einer nicht zu den Leguminosen gehörigen Pflanze brächte, auch deren Wachstum fördern könnte.

Die ersten Versuche wurden mit Hafer (Avena sativa) angestellt. Vier fünfzöllige Töpfe wurden mit einem Sand gefüllt, der so weit als möglich von organischen Substanzen und Nitraten gereinigt und genügend mit Phosphaten, Kali und Kalk gedünkt war. In jeden Topf wurden 20 Haferkörner gesät, und als die jungen Pflänzchen ungefähr einen Zoll groß waren, wurden zwei Töpfe mit einer auf dem oben beschriebenen Nährboden gezüchteten Mischkultur von Pseudomonas und Azotobacter begossen. Die Pflanzen wurden weiterhin regelmäßig mit destilliertem Wasser begossen und so lange beobachtet, bis die unbehandelten Pflanzen anfingen zu welken. Jede einzelne Pflanze wurde dann sorgfältig an der Luft getrocknet und gewogen; das Ergebnis war folgendes:

Unbehandelte Pflanze, durchschnittliches Gewicht:	0,42 g,
Behandelte „ „ „	0,74 g,

also ein Vorteil von 0,32 g oder 76 Proz.

1908 wurden Versuche auf dem Felde mit Gerste angestellt. Zwei Stück Land von je 482 Quadratyards wurden besät, das eine mit unbehandeltem Samen, das andere mit Samen, der mit der Mischkultur befeuchtet war. Der Boden war sehr mager und arm an organischem Stickstoff; 1906 war Hafer, 1907 Gerste darauf gewachsen. Die Ausbeute an Korn war im Herbst bei den beiden Stücken Land:

Unbehandelt	608 Pfund
Behandelt	691 „

also ein Vorteil von 83 Pfund oder 13,6 Proz.

Auf demselben Gut wurde auch in der Mitte eines Gerstenfeldes von 34 Acker Inhalt ein Streifen Land mit vorbehandeltem Samen besät. Bei der Ernte war es nicht möglich, den Ertrag der vorbehandelten Saat von der übrigen getrennt einzubringen; indessen wurden Kornproben von den behandelten und unbehandelten Stellen getrennt eingesammelt und einer Analyse unterworfen. Dabei ließ sich feststellen, daß die Gerste von der behandelten Stelle einen höheren Stickstoffgehalt aufwies:

	mg N %	Gewicht von 1000 Körnern	mg N pro Korn
Unbehandelt	1,55	48,5	0,75
Behandelt	1,76	49,5	0,87

Weitere Versuche wurden mit Hyazinthen (Galtonia candicans) angestellt, die auf sandigem Boden wuchsen. Der Boden war im August 1907 mit Kalk gedüngt worden, lag brach bis April 1908 und wurde dann mit Kuhdung — 10 Tonnen pro Acker — gedüngt. Sodann wurden in jedes Beet 250 Zwiebeln von gleicher Größe eingesetzt; ein Pfad von 14 Zoll Breite trennte beide Beete. Die behandelten Zwiebeln wurden zweimal mit der Lösung von Mischkulturen begossen, einmal im Mai und einmal im Juni; das Kontrollbeet wurde zugleich mit reinem Wasser begossen. Der Unterschied zwischen den behandelten und den unbehandelten Zwiebeln war während des Wachstums sehr deutlich; die behandelten waren kräftiger. Als sie ausgegraben wurden, waren die behandelten Zwiebeln deutlich größer als die unbehandelten. Nachdem sie trocken geworden waren, wurden sie sorgfältig gewogen, und zwar mit folgendem Ergebnis:

Unbehandelt:	69	Pfund	3	Unzen
Behandelt:	82	„	1½	„

also ein Vorteil von 12 Pfund 14½ Unze oder 18,6 Proz.

Endlich wurden Versuche mit Pastinaken auf gewöhnlichem Gartenboden angestellt. Januar 1908 wurde der Boden tief umgegraben und erst zur Hälfte mit Londoner Dung und dann mit gepulvertem Kalk gedüngt. Die Saat wurde Anfang Februar in nordsüdlich verlaufenden Reihen angelegt. Nach 14 Tagen wurde die nördliche Hälfte jeder Reihe mit einer Mischkultur von Pseudomonas und Azotobacter begossen. Januar 1909 wurden die Wurzeln geerntet und jede einzelne Wurzel mit folgendem Ergebnis gewogen:

Unbehandelt:	68	Wurzeln	22	Pfund	14	Unzen,	5,38	Unzen durchschnittlich
behandelt:	65	„	26	„	10	„	6,55	„ „

also ein Vorteil von 21,7 Proz.

Bei Laboratoriumsversuchen zur Bindung freien Stickstoffs durch Pseudomonas und Azotobacter ist es erforderlich, daß kohlensaurer Kalk in dem Nährboden vorhanden ist; bei allen angeführten Versuchen wurde Sorge getragen, daß in dem Boden eine ausreichende Menge kohlensaurer Kalk vorhanden war, damit die Bakterien ihre Wirksamkeit entfalten konnten.

Inhalt.

Fuhrmann, Franz, Die Geißeln von Spirillum volutans, p. 129.
Osterwalder, A., Unbekannte Krankheiten an Kulturpflanzen und deren Ursachen, p. 260.
Vahle, Carl, Vergleichende Untersuchungen über die Myxobakteriazeen und Bakteriazeen, sowie die Rhodobakteriazeen und Spirillazeen, p. 178.
Withe, Benjamin, and **Avery, Oswald T.,** Observations on certain lactic acid bacteria of the so-called Bulgaricus type, p. 161.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Royal Society London.

Bottomley, W. B., Über den Einfluß stickstoffbindender Bakterien auf das Wachstum von Pflanzen, welche nicht zu den Leguminosen gehören, p. 270.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klichees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Abgeschlossen am 9. November 1909.

Referate.

Gutfleisch, Ernst, Die Bakterien im Kreislaufe des Stoffes in der Natur und im Haushalte des Menschen. (Aus Natur u. Geisterwelt. Bd. 233). 8°. 138 pp. Leipzig (Teubner) 1909. 1,25 ℳ.

Eine Reproduktion der in den volkstümlichen Hochschulkursen in Königsberg 1904/05 gehaltenen Vorträge. Ausgeschaltet werden die Krankheitserreger. Die Darstellung ist eine populäre, leicht verständliche.

Der behandelte Stoff wird in 9 Kapitel gegliedert: Gestaltenlehre, Züchtung, Zerlegung der abgestorbenen Körper durch Spaltpilze, Gewinnung der Lebensenergie durch Tiere, Pflanzen und Spaltpilze, spezieller Kreislauf des Stickstoffes, Agrikulturbakteriologie, landwirtschaftliche Gewerbe und die Bakterien, die geistige Gärung, Mikroorganismen in der Küche.

Matouschek (Wien).

Gordan, P., und **Bahr, C.,** Bakterienkunde für landwirtschaftliche und Molkereilehranstalten, wie für die landwirtschaftliche Praxis. 8°. 63 p. m. 23 Textfig. Berlin (P. Parey) 1909. 1 ℳ.

In der von Gordan geschriebenen Einleitung werden behandelt: Die Formen, Kulturen und Abtötung der Bakterien, die künstliche und natürliche Immunität, Serumgewinnung und -impfung. Darauf folgt ein von Bahr bearbeiteter Abschnitt über die Tierseuchen. Es wird eingehend die Entstehung, Erkennung und Bekämpfung der Rindertuberkulose erläutert, der Milz- und Rauschbrand, die Maul- und Klauenseuche, Kälberruhr, Euterentzündungen, infektiöse Erkrankungen der Schweine, die Influenza, Rotzkrankheit, Tollwut und die Infektionskrankheiten des Geflügels. Weiterverbreitung dieser Seuchen. Was soll mit den gefallenen Tieren geschehen? Gordan bespricht darauf den Erreger des Mäuse- und Rattentyphus und wie er zur Tötung dieser Nager verwendet werden kann. Gordan bespricht darauf die Bakterien der Milch; angeschlossen werden Betrachtungen über die Aufbewahrung der Milch gegeben, über die Schimmelpilze, das Pasteurisieren, chemische Sterilisierungsmittel, die Milchfehler (durch Mikroben hervorgerufen), die Bakterien des Käses und die Übertragung von Krankheitserregern durch Milch. Im letzten Kapitel macht uns Gordan mit den Bakterien des Ackerbodens bekannt: Bodenmüdigkeit und ihre Bekämpfung durch Desinfektionsmittel, Bodenimpfung, Nitragin zur direkten Samenimpfung, Strohdüngung und Brache. Eine große Stickstoffquelle bilden wohl auch die niederen tierischen Mikroben (Infusorien, Amöben, Flagellaten) für den Boden, da in ihm jene in Menge vorkommen.

Das Büchlein bringt eine glückliche Auswahl des Stoffes. Die Darstellung ist eine streng wissenschaftliche, doch dabei klare und populäre.

Matouschek (Wien).

Fischer, Hugo, Neues aus der Bakteriologie. (Naturwissenschaftl. Wochenschrift. N. F. Bd. 8. 1909. p. 53—58).

Verf. behandelt folgende Kapitel:

1) Ultramikroorganismen. Die Nägelische Hypothese von den Probien (primitiven Organismen von kleinsten Dimensionen),

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

die noch in der Gegenwart jederzeit durch Urzeugung entstehen sollten, verliert an Glaubwürdigkeit. Ultramikroskopische Krankheitserreger sind bisher nicht nachgewiesen. 2) Fortbewegungsgeschwindigkeit und Bewegungskurven. 3) Nitrifikation. (Arbeiten von Coleman.) 4) Anaërobiose. (Arbeiten von Burri-Kürsteiner und H. Pringsheim.) 5) Extrem verkürzter Entwicklungsgang bei zwei Bakterienspezies. (Die von Garbowski bemerkte sehr rasche Sporenbildung in den soeben aus der Spore entkeimten Stäbchen, die sich gar nicht erst teilten, sondern sofort zur Sporulation schritten, z. B. bei Bacillus tumescens Zopf). 6) Entwicklungszyklen bei Bakterien. (Fuhrmanns Arbeit über Pseudomonas cerevisiae.) 7) Bakterienblasen oder Bakteriocysten. (H. Müller-Thurgau glaubt, daß die Blasen eine Schutzhaut vorstellen. Da sie aber nur unter den künstlichen Bedingungen der Mostgärung überhaupt zustande kommen, in natürlichem Substrate (in faulenden Birnen) aber gar nicht sich entwickeln, so dürfte nach H. Fischer wohl die rein kausale Auffassung die zutreffendere sein. Man hat es mit Gebilden zu tun, die keine biologische Bedeutung haben.) 8) Bienenkrankheiten. (Arbeit von A. Maassen.)

Matouschek (Wien).

Verworn, M., Allgemeine Physiologie. Ein Grundriß der Lehre vom Leben. 5. vollst. neu bearb. Aufl. XVI + 742. pp. m. 319 Fig. i. Text. Jena. (G. Fischer) 1909. 15 Mk.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß das Verwornsche Lehrbuch das bedeutendste Werk ist, das wir seit dem Tode Johannes Müllers über die Lehre vom Leben besitzen. Eminente Universalität des Wissens und glänzende Diktion prädestinieren den Verf., würdig mit seiner Arbeit das Erbe des Meisters der Physiologie, dem sie gewidmet ist, anzutreten. Verf. hat das Buch, dessen letzte (4.) Auflage 1903 erschien, vollkommen umgearbeitet und ganz erheblich an Inhalt und Umfang erweitert, so daß, wegen der Bedeutung, die das Buch für jeden Biologen hat, eine kurze Anzeige der vorliegenden neuesten Auflage (5.) an dieser Stelle wohl gerechtfertigt erscheint. Eine eingehendere Inhaltsübersicht dürfte sich wohl erübrigen. Vielmehr möchte Ref. an dieser Stelle Gelegenheit nehmen, auf die u. a. speziell den Bakteriologen interessierenden Kapitel kurz hinzuweisen, obgleich wohl der Verf. als der eigentliche Schöpfer der Zellularphysiologie, die sich ja auf der physiologischen Erforschung der einzelligen Organismen aufbaut, Seite für Seite Wichtiges für den Bakteriologen zu sagen hat, ebenso natürlich für den Protozoenforscher, dem es doch schließlich vor allem auf die Ergründung der Physiologie der von ihm studierten protozoären Organismen ankommen muß.

In dem angedeuteten Sinne möchte Ref. besonders die Kapitel „Von der lebendigen Substanz", „Von den elementaren Lebensäußerungen" und „Von den allgemeinen Lebensbedingungen" hervorheben, ebenso den Abschnitt, der das Wesen der Reizung und die Reizwirkungen an der Zelle behandelt. Verf. hat selbst, auch in seinen anderen Schriften, auf den hohen Wert der vergleichenden Methode hingewiesen. Es wird aber zugegeben werden müssen, daß ihre Anwendung für die Mehrzahl der beispielsweise bakteriologisch und protozoologisch arbeitenden Chemiker, Mediziner usw. nicht unerheblich dadurch erschwert ist, daß den Nichtbiologen eine systematische vergleichend-physiologische Schulung meistens gänzlich abgeht und daß diese bei den Medizinern ebenso oft mehr wie mangelhaft ist. Diese Lücke können ihrer nächsten Aufgabe wie ihrer ganzen Anlage nach die landläufigen Lehrbücher der Bakteriologie, Physiologie und Zoologie nicht ausfüllen. Hier setzt nach des Ref. Überzeugung die „Allgemeine Physiologie“ des Verf. in glücklichster Weise ein. Sie wird geradezu zum Bindeglied zwischen dem Wissen des Fachmannes (Chemiker, Arzt) und den erwähnten biologischen Spezialdisziplinen. Wie fern liegt dem Chemiker von Haus aus gewöhnlich die Arbeitsmethode des Biologen! Wo soll der Arzt sich über die Ergebnisse der Cellularphysiologie, wo über ihre, zu den niederen und den niedersten Tieren und Pflanzen gehörigen, erprobten Versuchsobjekte genügend und schnell orientieren? Ref. möchte allen, die in dieser Richtung sich belehren wollen, dringend raten, in erster Linie zu dem Verwornschen Buche zu greifen.

Mit seinen umfassenden chemisch-physiologischen und biologischen Kenntnissen stellt Verf. in seiner Allgemeinen Physiologie die denkbar sicherste Brücke, besonders für den Chemiker und Mediziner, der beim Studium der ihn beschäftigenden Mikroorganismen auf physiologische Probleme eingehen will, her zwischen den zahlreichen Disziplinen, mit denen jeder in Berührung treten muß, der irgendwie am Lehrgebäude der universellsten Wissenschaft, der Lehre vom Leben, mitarbeiten will.

Die typographische und illustrative Ausstattung des stattlichen, über 46 Druckbogen umfassenden Bandes ist, wie bei allen Unternehmungen des Jenenser Verlages eine ganz vorzügliche. Der Preis ist ein außerordentlich niedriger.

Ref. beschließt diese Anzeige mit dem Wunsche, daß das klassische Werk in seiner neuen Auflage erst recht das werden möge, was es von Anfang an zu sein in vollem Maße verdiente, ein Vademekum für jeden Naturforscher! Max Wolff (Bromberg).

Němec, B., Über die Natur des Bakterienprotoplasten. (Ber. d. deutsch. Bot. Ges. Bd. 26. 1909. p. 809—812.)

In der vielumstrittenen Kernfrage der Bakterien wird im Anschluß an die Experimente von Zacharias und Schwarz neuerdings von Ružička behauptet, daß die Bakterienprotoplasten ausschließlich aus Kernsubstanz bestehen. Bakterien, welche im künstlichen Magensaft einem Verdauungsprozeß unterworfen werden, zeigen keinerlei Strukturveränderung. Die Unverdaulichkeit sei aber ein Kriterium der Kernsubstanz. Verf. bestreitet dies. Wie der Kern so sei auch das Cytoplasma unverdaulich. Herter (Montevideo).

Rubner, Max, Grundlagen einer Theorie des Wachstums der Zelle nach Ernährungsversuchen an Hefe. (Sitzungsber. der kgl. preuß. Akad. d. Wissensch. 1909. No. 6. p. 164—179.)

Die Versuche wurden an Hefe diverser Art ausgeführt. Die Grundzüge des Stoffwechsels werden erläutert und dann die Beziehungen zwischen Wachstum und Nährmaterial besprochen. Neben der Gärung sind andere wärmeerzeugende Prozesse nicht von Bedeutung. Die Gärung entspricht im wesentlichen dem Kraftwechsel der übrigen Organismen, sie hat an sich nichts mit dem Wachstumsprozesse zu tun, sie ist also gleichwertig mit dem energetischen Kreisprozeß sonstiger Zellen. Die Energiemenge, welche die Hefe in lebender Substanz aufspeichert, macht höchstens 44 Proz. der Gesamtenergie von Gärung und Wachstumsgewinn aus. Diese Zahl stellt also den maximalen Wachstumsquotienten dar; kleinere Werte erhält man bei ungünstigerem Verhältnis zwischen N-haltigen Stoffen und Zucker in der Nahrung. Die Intensität des Wachstumsgewinnes ist außer vom Waschstum noch von der Lebhaftigkeit des Kraftwechsels überhaupt abhängig. Erreicht der Auswuchs eine bestimmte Größe, so erfolgt die Teilung resp. Sprossung, deren zahlenmäßiger Ablauf auf vererbter Eigenschaft beruht. Die meisten Versuche macht Verf. mit Wittes Pepton als N-Quelle. Die Aufnahme N-haltiger Nährstoffe hängt wesentlich von dem Verhältnisse des Stickstoffes der Nahrung zu dem Stickstoff der Zellen ab. Dies Verhältnis ist die sogenannte Nährstoffspannung. Ist letztere gering, so lagert die Hefe nur Reservestoffe ab, ohne zu wachsen. Für den Beginn des Wachstums läßt sich eine Reizschwelle angeben, die numerisch einer bestimmten Nährstoffspannung entspricht. Die niedrigste Nährstoffspannung der Wachstumsreizschwelle ist so gelegen, daß der Vorrat an Nährstoffen hinreicht, eine Zellteilung zu vollkommenem Abschlusse gelangen zu lassen. Die vom Verf. gegebenen recht geistreichen Darlegungen sind wohl vereinbar mit der Ausbildung einer Kern-Plasma-Spannung (im Sinne Rich. Hertwigs), ja sie ergänzen dieselbe durch die Klarlegung der Beziehungen zwischen Nährsubstanz und Zelle.

Matouschek (Wien).

Fluri, Max, Der Einfluß von Aluminiumsalzen auf das Protoplasma. (Flora. Bd. 99. 1908. p. 81.)

Die vorliegenden Untersuchungen an Spirogyra, Lemna, Elodea, Hydrocharis und Trianea führen den Verf. zu den folgenden Versuchsergebnissen. Verschiedene Aluminiumsalze (Al. sulfuricum, nitricum, chloratum und bichromicum), Yttrium nitricum und Lanthan nitricum bewirken im Licht an Spirogyra, Elodea canadensis und Lemna eine Entstärkung oder doch eine Stärkeabnahme. Während dieses Vorganges tritt eine Hemmung der Assimilation ein; doch wird der Assimilationsprozeß während der Entstärkung nicht sistiert. Unter dem Einfluß der erwähnten Verbindungen werden die Zellen permeabel für die bei der Plasmolyse gewöhnlich verwendeten Stoffe; die plasmolytischen Agentien treten in das Protoplasma über und vermögen daher keine Kontraktion hervorzurufen.

Der direkte Nachweis der eingedrungenen Substanzen durch chemische Reaktion ist nicht möglich, weil nur sehr wenig Stoff in die Zelle übergeht. Die Protoplasmaströmung hört in dem permeablen Protoplasten nicht auf, nur nimmt die Strömungsgeschwindigkeit um einen kleinen Betrag ab.

Mischt man die Aluminiumsalze mit Traubenzucker, Glyzerin oder Isodulcit, so wird ihr Einfluß aufgehoben; bei Kalisalpeter und Chlornatrium fehlt diese antagonistische Wirkung. Die Impermeabilität der Zellen kann mit Leichtigkeit wieder hergestellt werden.

Die Anschauung des Verfs. geht dahin, daß die Entstärkung wesentlich auf die Permeabilität zurückzuführen sei. Der Zucker würde ausgewaschen, die Wirkung der Diastase durch die Aluminiumsalze vielleicht verstärkt und die Assimilation der Kohlensäure heruntergesetzt.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Ruhland, W., Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. (Jahrbücher f. wissenschaftl. Botanik. Bd. 46. 1908. p. 1—54.)

Quinke (1888) und später Overton meinten, das Eindringen von Stoffen in das lebende Plasma sei von ihrer Löslichkeit in Öl abhängig. Da die Hautschichte aber kaum aus fettem Öle besteht, so modifizierte Overton später seine Ansicht dahin, daß die Plasmagrenzschicht aus Cholesterin und Lecithin zusammengesetzt sei. Demnach wären alle osmotischen Eigenschaften der lebenden Zelle auf rein physikalische Wechselwirkungen zwischen der Diffusionsmembran und dem diffundierenden Material zurückzuführen. Dieser Theorie schließt sich Ruhland nicht an. Er experimentierte mit Anilinfarbstoffen. Die Schnelligkeit der Aufnahme basischer („vitaler") und Sulfosäurefarbstoffe („nichtvitale") durch lebende Zellen, z. B. durch Spirogyra, ist ganz unabhängig von dem Grade der Lipoidlöslichkeit. Basische Stoffe (z. B. Methylengrün, basisches Rhodamin) werden in die Zellen im allgemeinen aufgenommen, Säure und speziell Sulfosäurefarbstoffe dagegen nicht. Die Lipoidlöslichkeit spielt dabei keine Rolle, da es unter den basischen Farbstoffen auch solche gibt, die sich in fettem Öle sehr schwer lösen (z. B. Thionin, Malachitgrün) und anderseits das Wollviolett leicht aufgenommen wird, trotzdem es zu den sehr leicht fettlöslichen Verbindungen gehört. Overton suchte nun diese Tatsachen damit in Einklang zu bringen, daß er den verdünnten wässrigen Lösungen der Farbsalze eine große hydrolytische Dissociation zusprach und sogar meinte, es werde nur die lipoidlöslichere freiere Farbbase aufgenommen. Dieser Ansicht ist Ruhland nicht. „Über die Ursachen dieses merkwürdigen Gegensatzes zwischen basischen und Säurefarbstoffen lassen sich bislang nicht einmal Vermutungen aussprechen."

Ruhland experimentierte aber mit künstlichen Cholesterin- und Lecithinmembranen. Es zeigte sich, daß sowohl fettlösliche als fettunlösliche Farbstoffe gleichmäßig auf Grund ihrer Wasserlöslichkeit hindurchtreten. Der die Permeabilität bedingende Stoff darf in Anbetracht der leichten Wasserdurchlässigkeit der Plasmahaut nicht ein im Wasser schwer oder gar nicht quellbarer Körper, ja nicht einmal ein im Wasser quellbarer Fettkörper sein, „da alsdann die auswählende Fettlöslichkeit durch die hinzukommende Wegsamkeit für im Wasser gelöste Verbindungen illusorisch gemacht würde".

Dadurch setzt sich der Verf. auch in Widerspruch mit der Ansicht von Nathanson (1904), der in der Plasmahaut Interstitien zwischen den lebenden Plasmateilen annimmt, die mit fettartiger Substanz erfüllt wären. Durch das Cholesterin sollten dann die fettlöslichen Substanzen in die Zelle gelangen und das Wasser und die wasserlöslichen Stoffe ihren Weg durch die lebenden regulatorisch wirkenden Plasmateilchen nehmen. Zum Schlusse verweist Ruhland darauf, daß sicher Proteïnstoffe die Plasmahaut mitaufbauen und daß das Cytoplasma stets die Funktion und Formation der Plasmahaut übernehmen kann. Matouschek (Wien).

Schroeder, H., Über die Einwirkung von Äthyläther auf die Zuwachsbewegung. (Flora. Bd. 99. 1908. p. 156.)

Die ersten Versuche über den Einfluß des Äthers auf das pflanzliche Wachstum stellte Claude Bernard an, welchem der Nachweis einer vorübergehenden Wachstumshemmung als Folge einer Äthereinwirkung gelang. Auch Siragusa konstatierte eine Verhinderung der Keimung ohne dauernden Verlust der Keimfähigkeit; er wies die Wachstumslähmung an ober- und unterirdischen Pflanzenteilen nach. Elfving fand durch exakte Messungen an Sporangienträgern von Phycomyces nitens, daß — wenn eine Ätherwirkung überhaupt nachzuweisen war — es sich hier stets um Verlangsamung oder um Stillstand der Zuwachsbewegung handelte.

Die beschleunigende Wirkung geringer Äthermengen behandelten später Johannsen, Townsend und Burgerstein.

Der Verf. der vorliegenden Arbeit untersuchte Avena-Keimlinge, welche er in Glaszylinder mit 3 ccm Wasser oder Ätherwasser von verschiedenen Konzentrationen und einem Luftraum von etwa 100 ccm brachte. Zuerst wurde der Zuwachs unter normalen Bedingungen, dann unter Einwirkung des Äthers, dann wieder unter normalen Bedingungen usw. geprüft, so daß an jeder einzelnen Pflanze eine ganze Reihe von Messungen ausgeführt werden konnten. Mit Hilfe des Horizontalmikroskopes stellte Verf. den stündlichen Zuwachs fest.

Die Versuche ergaben für Dosen von 1—5 Volumprozent Ätherwasser eine anfängliche mehr oder minder starke Beschleunigung der Zuwachsbewegung, welcher aber eine Verzögerung bis unter die normale Größe folgt, so daß das Gesamtergebnis nach der Ansicht des Verf.s, wenigstens für die Keimlinge der betreffenden Versuchspflanze, durchweg eine Hemmung darstellt. Der Abfall tritt um so rascher ein, je größer die dargebotene Äthermenge ist. Bei Verwendung von 5 Proz. Ätherwasser konnte ein vollkommener Wachstumsstillstand während 4 Stunden erzielt werden, worauf sich der Keimling wieder erholte. Ähnliches war früher schon für Phycomyces konstatiert worden. 8 Proz. Ätherwasser führte augenblicklich den Tod herbei.

Kegel hatte in seinen Versuchen beobachtet, daß 5,5—10 Volumprozent Ätherwasser den aus der Schnittfläche eines belichteten Elodea-Sprosses austretenden Blasenstrom für einige Minuten ungemein beschleunigt, wogegen geringere Dosen lediglich eine Verlangsamung zur Folge haben. Er schließt daraus auf eine erregende Wirkung des Äthers auf die Kohlensäureassimilation. Gegen diese Auffassung wendet sich nun der Verf., welcher durch Nachprüfung zum Schlusse kommt, daß es sich hier nur um einen physikalisch-chemischen und nicht um einen physiologischen Prozeß handle, indem der stärkere Blasenstrom im wesentlichen als ein Austreiben der Gase aus den Intercellularen zu erklären sei.

Verf. hebt hervor, daß Angaben von wachstumserregenden und -hemmenden Ätherdosen selbstverständlich auch die Einwirkungsdauer beigefügt werden muß. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Clifart, Dobell, On the so-called „sexual“ method of spore formation in the disporic Bacteria. (The Quarterly Journ. of Microscopical Science. 53. Mai 1909.)

Der Verf. hat die Cytologie zweier Bazillen untersucht, welche er im Rektum von Kröten und von Fröschen gefunden hat.

Der eine, Bacillus spirogyra (nov. spec.), zeigt fast stets, und zwar in sehr anschaulicher Weise einen axialen, geradlienigen oder öfters spiralig gekrümmten Faden. Derselbe färbt sich sehr leicht mit Borax — Hämatoxylin und ganz besonders nach Giemsa. Er zeigt die Eigenschaften

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

des Chromatins und teilt sich bei der Zellteilung durch Abschnürung. Man kann ihn also als eine Art Kern auffassen.

Die Sporulation vollzieht sich immer in Zellen, welche kleiner sind als die vegetativen Zellen, welche durch Einschnürung sich von einer Mutterzelle trennen. Die Zellen bilden nur eine Spore. In Ausnahmefällen aber, welche eine Abnormität darstellen, kommt es vor, daß eine Zelle, die viel länger ist als die gewöhnlichen sporenbildenden Zellen, zwei Sporen bildet, und zwar an jedem Pol eine. In diesem Falle beginnt die Zelle mit einer transversalen Einschnürung, die jedoch sehr bald unvollendet zum Stillstand kommt.

Nach der Sporulation schwillt der chromatische Faden an dem einen Ende zu einem großen Klumpen an, der einem Kern ähnelt und die Anlage der Spore bildet. Derselbe umhüllt sich bald mit einer dichten Membran, die die weitere Färbung der Spore vereitelt. Damit ist die Spore ausgewachsen.

Die andere von Dobell beobachtete Art, Bacillus lunula (nov. spec.), zeigt die gleiche Beschaffenheit. Die Sporulation weist sehr seltsame Eigentümlichkeiten auf. Bei etwa der Hälfte der Fälle bildet sich in jeder Zelle eine einzige Spore, und die Zellen, welche diese Sporen hervorbringen, stammen durch kurz vorhergehende Teilung von einer Mutterzelle ab, die ihrerseits sich von den gewöhnlichen Zellen dadurch unterscheidet, daß sie kleiner als diese ist. Im anderen Falle bildet jede Zelle zwei Sporen, an jedem Ende eine. Dabei ist aber die Zelle, welche sich zur Sporulation anschickt, viel länger, als bei den Formen, welche nur eine einzige Spore hervorbringen. Überdies unterzieht sie sich einer anfänglichen transversalen Einschnürung, die indessen unvollendet bleibt. Dieser Versuch einer Einschnürung kann auch, sei es vor, sei es nach der Bildung der Sporen, zu einem erfolgreichen Abschluß kommen. Dieser Vorgang einer unvollständigen Einschnürung der Zellen, welche im Begriff stehen, Sporen zu bilden, erinnert lebhaft an die Zellteilung, auf welche eine Wiedervereinigung der Tochterzellen folgt, wie es bei dem seiner Zeit von Schaudinn beschriebenen B. Bütschlii vor der Sporulation stattfindet. Da jedoch die unvollständige Einschnürung der Bildung der Sporen nicht immer voraufgeht, und sich oft auch erst nach ihrer Bildung vollzieht, so glaubt der Verf. nicht, daß man in diesem Vorgange einen rudimentären sexuellen Akt sehen dürfe, wie dies Schaudinn tut. Dobell nimmt im Gegenteil an, daß die Sporen normaler Weise in zwei Tochterzellen entstehen, die sich soeben geteilt haben, und daß die Fälle, in denen eine verlängerte Zelle, welche den Versuch der Einschnürung ohne Erfolg gemacht habe, zwei Sporen bilde, nur eine von der Norm abweichende Form des beschriebenen Vorganges bildeten. Guilliermond (Lyon).

Brasch, Walter, Über den bakteriellen Abbau primärer Eiweißspaltprodukte. (Biochem. Zeitschr. Bd. 18. 1909. p. 380.)

Verf. hatte früher mit Neuberg die Entstehung von Buttersäure bei der Fäulnis der Glutaminsäure beobachtet. Er führte die Fäulnisversuche jetzt mit Bakterienreinkulturen durch. Die aëroben Arten bildeten nur in ganz geringer Menge Buttersäure, während der anaërobe B. putrificus erhebliche Quantitäten Buttersäure produziert. Allerdings war die entstandene Menge geringer als bei der Fäulnis durch Bakteriengemische. Andere Anaërobier bildeten ebenfalls nur in geringer Menge Buttersäure. Durch B. coli und B. lactis aërogenes wird die Bildung von Butter-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

säure durch B. putrificus gehemmt. Während vom B. putrificus die gebildete Buttersäure im allgemeinen nicht weiter abgebaut wird, treten bei den aëroben Bakterien niedere Fettsäuren, besonders Essigsäure auf. Meyer (Stettin).

Buard, G., Recherche de l'indol dans les cultures microbiennes. (Compt. Rend. Soc. Biol. T. 65. 1908. p. 158.)

10 ccm der Kultur in Peptonwasser, hierzu 5—6 ccm absoluten Alkohol, dann stark gemischt und Hinzugabe von 1 ccm alkoholischer Vanillinlösung und zuletzt von 3 ccm ganz reiner HCl. — Mit Indol erhält man dann eine Rosafärbung, die nach wenigen Stunden in rotviolett oder magentarot übergeht. Wird leicht erwärmt, so geht die Reaktion schneller vor sich. Pepton Witte und Defresne empfehlen sich am besten; letzteres gibt Rosafärbung mit Safrannuance. Matouschek (Wien).

Lauterborn, Bericht über die Ergebnisse der 5. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Basel—Mainz (vom 4.—16. Juli 1907). (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 30. 1909. p. 523.)

Marsson, Bericht über die Ergebnisse der 5. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Mainz bis Koblenz (vom 9.—16. Juli 1907). (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 30. 1909. p. 543.)

Die 5. biologische Untersuchung des Rheins wurde in derselben Weise wie die früheren durchgeführt, sie war wie die im Frühjahr 1907 (März) vorgenommene 4. durch Hochwasser beeinflußt. Die Nebenflüsse (auch Neckar, Main, Mosel) zeigten Rückstau. Bezüglich der genaueren Untersuchungsergebnisse der einzelnen Rheinabschnitte muß auf die Berichte selbst verwiesen werden. Hier sei nur erwähnt, daß nach dem Ergebnis der Untersuchungen der chemische Faktor der selbstreinigenden Kraft des Rheinwassers noch ausreicht, so daß weder saure noch alkalische Abwässer der rheinischen Großindustrie im Rhein die Fauna des Grundes auf weitere Strecken zu schädigen vermögen. Die in wirtschaftlicher Beziehung für Erhaltung der Fische wichtige gröbere Bodenfauna wird auch durch Hochwasser nicht hinweggeschwemmt, so daß zu allen Jahreszeiten und bei allen Wasserständen der Fischbestand gesichert zu sein scheint.

Haendel (Gr.-Lichterfelde).

Guiraud et **Maudoul, H.,** A propos de la signification du Bacillus coli dans les eaux potables. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. 22. 1908. No. 11. p. 917.)

Toulouse bezieht sein Leitungswasser aus vier in den durchlässigen Boden des linken Garonneufers unter dem Spiegel des Flusses in Ziegelbau ausgeführten Sammelgängen, die sowohl durchsickerndes Flußwasser, wie das Grundwasser in sich aufnehmen, ohne dabei eine nennenswerte filtrierende Wirkung auszuüben. Einer dieser Sammelkanäle liegt im Grundwassergebiet einer dichtbebauten Vorstadt. Die Möglichkeit einer Verunreinigung des Leitungswassers ist somit sehr groß, zumal auch das Hauptsammelrohr durch seinen undichten Bau gegen das Hineingelangen von Oberflächenwasser nicht hinreichend geschützt ist. Für die Feststellung des Grades dieser Verunreinigungen erwies sich den Autoren die Zahl der im Wasser enthaltenen Colibakterien als ein wichtiger Faktor; sie konnten stets eine Vermehrung derselben feststellen, sobald durch das Steigen des Wasserspiegels und den dadurch bedingten höheren Druck die Filtration noch ungenügender war, als sie durch dieses durchaus unzureichende Filtersystem schon unter normalen Umständen geleistet wurde. Auch während einer auf dem Wasserwege zustande gekommenen Typhusepidemie, deren Ursprung auf eine Verunreinigung des Hauptsammelrohres zurückgeführt werden konnte, war die Zahl der Colibakterien im Wasser bedeutend erhöht.

Ungermann (Königsberg).

Barber, M. A., The rate of multiplication of Bacillus coli at different temperatures. (The Journal of infectious Diseases. Vol. 5. 1908. p. 379.)

Gegenüber früheren Untersuchungen hat die von Barber den Vorzug, daß er mit Hilfe seines früher angedeuteten Verfahrens (vgl. mein Ref. dieses Centralbl. Bd. 23. 1909. p. 221) wieder von Einzelorganismen ausging, die er unter dem Mikroskop auswählte. Dadurch gelang es immer von kräftigen Individuen erwachsende Kulturen zu gewinnen. Die ursprüngliche langsame Wachstumsperiode, die früher beobachtet worden war, wenn eine geringe Anzahl von Bakterien auf ein frisches Medium transferiert wird, wurde deshalb wenigstens für Bac. coli nicht beobachtet. Die Vermehrung des Bac. coli beginnt bei 10° und steigt schnell in ihrer Intensität bis zu 37° C., wo ein Maximalwert von 17 Minuten beobachtet wurde. Die Intensität bleibt bis zu 45° nahezu konstant, von wo an sie schnell abfällt, bis bei 49° keine Vermehrung mehr beobachtet wurde.

Unter konstanten Bedingungen bleibt die Vermehrungsintensität bis wenigstens zur 38. Generation, die noch beobachtet wurde, konstant und alle Descendenten fahren fort sich mit derselben Geschwindigkeit zu vermehren.

Der Verf. schlußfolgert aus seinen Resultaten, daß Titertemperaturen wahrscheinlich nicht hoch genug sind, um die Vermehrungsintensität pathogener Bakterien bedeutend zu beeinflussen. Bei Bac. coli besteht keine Beziehung zwischen Beweglichkeit und Schnelligkeit der Teilung.

Die Zahl der Bakterien wurde durch Zählung in der feuchten Kammer festgestellt. Zur Kontrolle wurden mit Methylenblau gefärbte Kulturen gezählt. Pringsheim (Charlottenburg).

Bechmann, M., Utilisation agricole des eaux d'egouts. (VIII. Congrès internat. d'Agricult. Vienne. 1907. Rapports. Sektion V—VII. Bd. 3. Sekt. V. Rapport 6/b. Vienne 1908. p. 1—9.)

Das vom Verf. erstattete Referat bringt folgende Konklusionen:

1) Der landwirtschaftlichen Verwertung der Kanalwässer muß fortgesetzt die größte Aufmerksamkeit zugewendet werden, namentlich dort, wo es die lokalen Verhältnisse gestatten.

2) Sowohl vom Gesichtspunkte der Hygiene als von dem der Landwirtschaft ist der Vorgang der Reinigung der Kanalwässer durch den bebauten Boden der vollkommenste und der empfehlenswerteste.

3) Durch die neuen künstlichen biologischen Verfahren, welche nicht vollständig hygienische Resultate ergeben, gehen der Bodenwirtschaft eine bedeutende Menge wichtiger Nährsalze verloren. Sie dürfen daher die Reinigung dieser Wässer durch die Bodenwirtschaft nur in jenen Fällen ersetzen, in denen diese letzteren aus bestimmten Gründen nicht anwendbar sind.

4) Sie können in vorteilhafter Weise mit der Verwertung durch die Landwirtschaft vereinigt werden, sei es um die Kanalwässer von einem schädlichen

Überschuß an ungelösten Stoffen zu befreien, sei es um ganz außerordentlichen Forderungen der Assanierung Rechnung zu tragen, denen die Bodenwirtschaft nicht genügt. Matouschek (Wien).

Danckwerts, Die landwirtschaftliche Verwertung städtischer Abwässer. (8. Congrès internat. d'Agricult. Vienne 1907. Rapports. Vol. 3. Sektion V. Referat 2 b. Wien 1908. p. 1—29, m. Textabbild.)

Der landwirtschaftlich wertvollste Teil der städtischen Abwässer sind die Fäkalien; ihre Ausnutzung ist durch Trennung von den wertlosen Regenwässern, und wenn nötig, auch von den geringer wertigen Küchenwässern zu befördern. Reine Fäkalien (Trockenfäkalien) ohne oder nur mit einer geringen Verdünnung durch Klosettspülwasser können dadurch nutzbar gemacht werden, daß sie nach Abfuhr und anschließendem sanitär einwandsfreien Transport auf Spezialeisenbahnwagen oder Spezialschiffen über möglichst große Landflächen mittelst Jauchefässer ausgebreitet werden. Werden Fäkalien mittelst Spülwasser (Wasserfäkalien) zu stark verdünnt, so wird die Abfuhr sehr verteuert und schließlich unmöglich gemacht. Es sollten in Städten nur solche Spülvorrichtungen zugelassen werden, bei denen die Stärke und Dauer der Spülung durch die Hand des Benutzers geregelt und auf ein Mindestmaß beschränkt wird. Wird die Abfuhr der Spülfäkalien aber wegen allzu starker Verdünnung zu teuer, so ist sie durch ein System von Druckleitungen und Pumpen zu ersetzen. Innerhalb der Städte kommt hierfür zur Zeit in erster Linie das System Shone mit seinen Modifikationen in Betracht. Auf dem Felde erfolgt die Ausbreitung am besten durch das in Eduardsfelde bei Posen zuerst eingeführte Verfahren des Gutsbesitzers Nöbel. — Sollen Brauch- und Küchenwässer gemeinsam mit den Fäkalien abgeleitet werden, so gilt auch hier das eben gesagte. Es kann aber auch die Ableitung mittelst druckloser Gefällsleitungen in Frage kommen; doch ist der Zusammenführung an einem (dem tiefsten) Punkt die radiale Ableitung aus der Stadt vorzuziehen, weil dadurch die Ausbreitung des Abwassers über große Flächen befördert wird. Diese Verteilung auf dem Felde kann statt durch Röhren auch durch offene Gräben oder durch Umbau der Flächen erfolgen, wenn auch die Bewirtschaftung wesentlich erschwert wird. Die Fäkalien sind möglichst frisch zu verwenden. Muß infolge irgend welcher Umstände ein Ausgleich zwischen Zu- und Abfuhr, Zu- und Abfluß erfolgen, so sind Ausgleichsbehälter in der Nähe der Verwendungsstellen anzulegen. Innerhalb der Städte sind statt der üblichen kleinen Gruben womöglich größere Bezirksbehälter zu empfehlen.

Matouschek (Wien).

Masobey, E. George, Land utilisation of sewage. (VIII. Congrès internat. d'Agricult. Vienne. 1907. Vol. III. Section V. Rapport 2/B. Vienne 1908. p. 1—13.)

Im britischen Inselbereiche läßt sich derzeit eine Bevorzugung der künstlichen biologischen Abwässerreinigung hauptsächlich unter Verwendung von Klärbecken und Bakterienbetten erkennen, da für die Landberieselung zumeist ein entsprechendes Terrain fehlt oder die Grundpreise viel zu hoch sind und da der künstliche Reinigungsprozeß ohne Störung durch Witterungseinflüsse leichter abgewickelt werden kann. Für die Anwendung der Art des Reinigungsverfahrens sind maßgebend eine Anzahl von Umständen (Niveauverhältnisse und Bodenbeschaffenheit des Geländes, Kostenfrage, Beschaffenheit der Abwässer, Nähe von Wohnungsstätten). Die meisten Bodenarten besitzen die Fähigkeit, Abwässer zu reinigen, wenn die zugeführte Abwassermenge im richtigen Verhältnisse steht zu der reinigenden Kraft des Bodens. Der allerbeste Reinigungserfolg in jeder Hinsicht läßt sich auf leichtem lehmigen Boden mit durchlässigem Untergrunde (wie Sand, Schotter) erzielen. Die Schwierigkeiten, die sich wegen des schweren Tonbodens auf den Rieselfeldern von Leicester ergaben, wurden folgendermaßen beseitigt: Jeder einzelne Schlag erhält ein vollkommen selbständiges Drainsystem mit einer Ableitung nach einem Schachte, von dem aus das Drainwasser auf die Oberfläche eines benachbarten tiefer gelegenen Schlages geleitet und hier neuerlich zur Versickerung gebracht werden kann usw., bis endlich der erwünschte Reinheitsgrad erreicht und das Wasser in einen benachbarten Sammeldrain eingeleitet werden kann. Tief gelegenes Gelände mit schwachem Gefälle würde natürlich eine derartige wiederholte Behandlung unmöglich machen. Rohe Abwässer können sowohl auf sehr durchlässigen Böden unmittelbar verrieselt werden; aber auf den meisten Bodenarten ergeben sich bei einer derartigen direkten Verwendung unvermeidliche und recht schwerwiegende Mißstände. Einen vorzüglichen Reinigungserfolg erzielte Verf. folgendermaßen: Vorbehandlung der Abwässer in Absatzbecken und einstufigen Einstaukörpern und eine Nachbehandlung auf altem Weideland. Eine Schädigung der Vegetation ist total vermieden. In Leicester wurden zu diesem Zwecke 4,8 ha primärer Einstaukörper angelegt. —

Bei einer bakteriellen Vorbehandlung läßt sich auf der Flächeneinheit Landes eine viel größere Abwassermenge durchgreifend reinigen. Auch dort, wo eine vollständige künstliche biologische Behandlung stattfindet und die gegenseitigen Niveauverhältnisse zwischen den Oxydationskörpern und dem Nachbarlande dies gestatten, können die gereinigten Abwässer mit Vorteil zur Bewässerung von Kulturland verwendet werden, namentlich in trockenen Zeiten. Die in den Abwässern enthaltenen organischen Stoffe, die durch die Vorbehandlung bereits zum größten Teile in unorganische Verbindungen übergeführt sind, befinden sich demgemäß auch in einer für die Ernährung der Pflanzen vorzüglich geeigneten Form, ohne sie zu verunreinigen. Andere Vorteile einer künstlichen Vorbehandlung der Abwässer liegen in folgendem: 1) Wegfall großer Flächen unbestellbar bleibenden Landes. 2) In der Herabsetzung der Betriebskosten der Rohertragssteigerung der bebauten Flächen und 3) In der Fernhaltung eines klebrigen Schlammes, der sich sonst an den Pflanzen ansetzt. 4) Die Erfahrung lehrt, daß der gesteigerte Ertrag infolge des größeren Pflanzenproduktionsvermögens der mit Abwässer berieselten Ländereien nicht in angemessenem Verhältnisse zu den Betriebskosten steht, den Kosten des Landerwerbes und der Kapitalinvestition für die Abwasserreinigungsanlage-Errichtung. Matouschek (Wien).

Oppenheimer, C., Methodologie der Enzymforschungen. [In R. Tigerstedt, Handbuch der physiologischen Methodik Bd. 2. Abt. 2. p. 54—58.] Leipzig (S. Hirzel) 1908.

Verf. erläutert zuerst die bezüglich der Darstellung und Untersuchung der Enzymreaktionen aufgestellten Methoden, zeigt dann, wie man störende

Erscheinungen (z. B. bakterielle Verunreinigungen, direkte Zelltätigkeit) beseitigt und bespricht dann einzeln die Fermente und die bei ihrem Studium benützten Methoden. Solche aber, die bei den physikalisch-chemischen Studien der Fermente angewendet werden, streift er nur gelegentlich. Matouschek (Wien).

Michaelis, L. und **Rona, P.,** Bemerkung zu der Mitteilung von Resenscheck in Bd. 15. p. 1 dieser Zeitschrift. (Biochem. Zeitschr. Bd. 15. p. 217. 1908.)

Verff. hatten schon vor Resenschek Adsorptionsversuche mit Hefepreßsaft angestellt, sie aber nicht zu Ende geführt wegen der etwas komplizierteren Verhältnisse, bedingt durch die Anwesenheit des Co-Enzyms. Auf Grund dieser Versuche und derer Resenscheks scheint es Verff, als ob die eigentliche Zymase weder von positiven noch negativen Adsorbentien gut adsorbiert wird. Daraus wäre mit Vorsicht zu schließen, daß Zymase ein elektro-indifferenter (also nicht amphoterer) Stoff ist. Beim anscheinend dem widersprechenden Versuch Resenschecks könnten durch elektrolytische Einflüsse bedingte Schädigungen an der Anode mitgespielt haben. Verff. haben Versuche über diese Frage im Gange.

Kurt Meyer (Stettin).

Scurti, F., e **Parrozzani, A.,** Sul potere lipolitico dei semi di croton tiglio. (Gazzetta chimica. vol. 37. 1907. I. Sem. p. 476—482, 486—488, 488—504.)

Der Samenbrei aus Croton Tiglium besitzt die Fähigkeit, in aseptischer Autolyse alkoholische und phenolische Ester zu spalten, Rohrzucker zu invertieren, Raffinose in reduzierenden Zucker, Stärke in Glukose umzuwandeln.

Crotonsamen enthalten auch im Ruhezustande ein proteolytisches Enzym, welches die Umwandlung der Eiweißstoffe der Crotonsamen in einfachere, lösliche und diffusionsfähige Stoffe bewirkt. Seine Wirkung ist eine tryptische, und führt zu denselben Produkten wie die Hydrolyse mit Mineralsäuren. Es läßt sich eine große Ähnlichkeit zwischen diesen autolytischen Vorgängen und dem Eiweißumsatz bei der Keimung nachweisen. Die Autolyse des Samenbreies dauerte 40 Tage bei 35—40°. Es wurden Gesamt- und Eiweißstickstoff bestimmt, dann Histidin, Arginin, Lysin, Glutamin, Asparaginsäure, Leucin und Phenylalanin isoliert.

E. Pantanelli (Rom).

Baur, Über Fettspaltung mit Pankreas. (Zeitschr. f. angew. Chemie. 1909. p. 97.)

Verf. hat erkannt, daß für die fettspaltende Wirkung von Pankreas eine bestimmte, aber sehr geringe Alkalität des Reaktionsgemisches von großem Vorteil st. Er stellt aus frischen Bauchspeicheldrüsen vom Schwein oder Rind durch entsprechende Behandlung mit Alkohol ein Dauerpräparat her, welches viele Monate lang seine lipolytische Kraft unverändert bewahrt, und zur Verseifung von Fetten in größerem Maßstabe verwendet werden kann. Verf. beschreibt eingehend, wie hierbei zu verfahren ist, insbesondere wie durch richtige Regulierung der Reaktion durch Zugabe von Sodalösung die günstigsten Bedingungen für die Fettspaltung geschaffen werden können.

„Die Geschwindigkeit der Fettspaltung, ihre Vollständigkeit, die niedrige Arbeitstemperatur, die Einfachheit der Ausführung lassen vermuten, daß die Verseifung mit Pankreas in der Seifen- und besonders in der Stearinfabrikation mit Vorteil wird angewendet werden können.“

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Dem bereits eingeführten Ricinusverfahren wird die Pankreasverseifung allerdings nicht ohne weiteres erfolgreiche Konkurrenz machen können wegen des billigeren Preises und der größeren Haltbarkeit der Ricinussamen.

Vogel (Bromberg).

Sigmund, Wilhelm, Über ein salicinspaltendes und ein arbutinspaltendes Enzym. (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch. Wien, math.-natw. Klasse. Bd. 117. 1908. Abt. I. p. 1213—1223.)

1) In einigen der gemeinsten Salix- und Populus-Arten wurde das salicinspaltende Enzym nachgewiesen. Die erfolgte Spaltung des Salicins in Glukose und Saligenin wurde sowohl durch Autolysenversuche als auch durch die mittels Alkohol isolierte enzymhaltige Substanz sichergestellt. Die Mitwirkung von Bakterien war ausgeschlossen. Das isolierte Enzym war nicht Emulsin. Verf. nennt es „Salikase“.

2) In Calluna vulgaris und Vaccinium Myrtillus wies Verf. eine auf Arbutin wirksame Substanz nach, die Arbutin in Glukose und Hydrochinon spaltet. Er benennt das betreffende Enzym „Arbutase“.

Matouschek (Wien).

Neuberg, Carl, und **Cappezzuoli, Cesare,** Biochemische Umwandlung von Asparagin und Asparaginsäure in Propionsäure und Bernsteinsäure. (Biochem. Zeitschr. Bd. 18. 1909. p. 424.)

Aus Asparaginsäure entsteht bei der Fäulnis durch Abspaltung der einen Carboxyl und der Aminogruppe Propionsäure, daneben Ameisensäure und Bernsteinsäure. Nach 30 Tagen ist etwa die Hälfte der Asparaginsäure zerlegt. Asparagin wird in ähnlicher Weise zersetzt, doch ist die Menge der gebildeten Propionsäure und Bernsteinsäure bedeutend größer als bei der Asparaginsäure. Man muß daraus schließen, daß das Amid ein besseres Nährmaterial für die Fäulnisbakterien darstellt als die freie Säure.

Meyer (Stettin).

Neuberg, Carl, Verhalten von racemischer Glutaminsäure bei der Fäulnis. (Biochem. Zeitschr. Bd. 18. 1909. p. 431.)

Der Abbau der racemischen Glutaminsäure durch die gewöhnlichen Fäulniserreger verläuft nicht merklich verschieden von der Zerlegung der natürlichen rechtsdrehenden Säure. Eine optisch-aktive Form tritt nicht auf.

Meyer (Stettin).

Neuberg, Carl, und **Karczag, Lázló,** Verhalten von d, l-α-Aminoisovaleriansäure (d, l Valin) bei der Fäulnis. (Biochem. Zeitschr. Bd. 18. 1909. p. 435.)

d, l-Aminoisovaleriansäure wird bei der Fäulnis zum Teil desamidiert und liefert eine Valeriansäure, vermutlich Isovaleriansäure. Ein Teil der Aminosäure geht unter Abspaltung von Kohlensäure in Butylamin über. Der Abbau erfolgt asymmetrisch; der zurückgewonnene Teil der Aminosäure war in salzsaurer Lösung linksdrehend.

Meyer (Stettin).

Brocq-Rousseu et **Gain, Edmond,** Sur la présence de l'amylase dans les vieilles graines. (Compt. Rend. Acad. scienc. Paris. T. 148. 1909. p. 359—361.)

Schon früher haben die Verff. nachgewiesen, daß in sehr alten Samen, die sicher schon die Keimfähigkeit eingebüßt haben, noch gewisse Enzyme und zwar Peroxydiastase vorkommen. In vorliegender Arbeit beschäftigen sie sich mit 50 Jahre alten Getreidesamen, welche aus einer Samm-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

lung Godrons stammen, wo sie in mit Wachs verschlossenen Fläschchen lagen. Auch diese Samen enthielten Enzyme und zwar stärkeverzuckernde (Amylase, Dextrinase). Die Enzyme mochten wohl ihr diastatisches Vermögen zum Teile eingebüßt haben. Die Arbeiten der Verff. zeigen, daß auch nach Verlust der Keimfähigkeit die Enzyme wirken können.

Matouschek (Wien).

Buchner, Eduard, und **Haehn, Hugo,** Über das Spiel der Enzyme im Hefepresssaft. (Biochem. Zeitschr. Bd. 19. 1909. p. 191.)

Die Reaktivierung von ausgegorenem Presssaft durch Kochsaft gelingt nach vier Tage dauernder Gärung nicht mehr regelmäßig und zwar bei verschiedenen Säften ungleich. Diese Unterschiede dürften von dem Mengenverhältnis der Zymase zum Ko-Enzym abhängig sein. Das Unwirksamwerden des Presssaftes ist wohl auf das Verschwinden des Ko-Enzyms zurückzuführen, während die Zymase erhalten bleibt. Das Ko-Enzym scheint die Zymase vor der Zerstörung durch die Endotryptase zu schützen. Ist relativ mehr Ko-Enzym vorhanden, so bleibt die Zymase und damit die Regenerierbarkeit länger erhalten.

Weiter zeigte sich, daß durch Lagern unwirksam gewordener Preßsaft sich ebenfalls durch Kochsaft reaktivieren läßt. Allerdings gelingt die Regenerierung nur kurze Zeit, schon nicht mehr nach drei Tagen. Die Versuche zeigten, daß die in den ersten Tagen eintretende Vermischung der Gärungsenzyme mit dem Gärungsvorgang selbst nichts zu tun hat. Sie erfolgt bei Abwesenheit von Zucker schneller, da alle enzymatischen Vorgänge in konzentrierten Zuckerlösungen langsamer ablaufen. Eine ähnliche Schutzwirkung übt Glyzerin aus. Zusatz von Dinatriumphosphat wirkt sehr günstig auf die Erhaltung der Gärwirkung und der Regenerierbarkeit ein. Offenbar wird einmal die Zymase durch die schwach alkalische Reaktion vor der besonders bei saurer Reaktion wirksamen Endotryptase geschützt, andererseits die Zersetzung des Ko-Enzyms durch den Phosphorsäuregehalt gehemmt. Das stärker alkalische Kaliumkarbonat schützt zwar ebenfalls die Zymase, zerstört aber wohl durch Alkaliwirkung das Ko-Enzym, so daß der Saft zwar gut regenerierbar bleibt, aber seine Gärfähigkeit einbüßt. Andererseits wird durch Salzsäurezusatz besonders auch die Regenerierbarkeit des Preßsaftes stark geschädigt.

Wie schon erwähnt, übt Zusatz von Kochsaft einen günstigen Einfluß auf die Erhaltung des Gärvermögens des Preßsaftes aus. Das Ko-Enzym schützt also die Zymase vor der Wirkung des proteolytischen Enzyms. Wahrscheinlich tritt eine Bindung zwischen Zymase und Ko-Enzym ein, die aber locker und nur bei Gegenwart überschüssigen Ko-Enzyms beständig ist.

Beim Lagern verschwindet das Ko-Enzym vor der Zymase. Für seine Zerstörung scheinen weniger proteolytische, als lipolytische Fermente verantwortlich zu sein. Ricinuslipase wirkt in dieser Beziehung sehr energisch. Auch durch Einwirkung von 2,5 Proz. Kaliumkarbonat bei 35° wird das Ko-Enzym zerstört und durch wiederholtes Aufkochen erheblich geschädigt. Diese Tatsachen stimmen mit der Auffassung des Ko-Enzyms als eines leicht verseifbaren organischen Phosphorsäureesters gut überein. Vielleicht findet auf diese Weise auch die hemmende Wirkung alkalisch reagierender Kaliumarsenitlösungen auf die zellfreie Gärung ihre Erklärung.

Kurt Meyer (Stettin).

Lindner, Paul, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben mit einer Einführung in die technische Biologie, Hefenreinkultur und Infektionslehre, für Studierende und Praktiker bearbeitet. 5. neubearb. Aufl. 574 Seiten. Mit 277 Textabbild. u. 52 Abbild. auf 4 Tafeln. Berlin (Paul Parey) 1909.

Die Neuauflage der „Mikroskopischen Betriebskontrolle" hat solche Erweiterungen und Umarbeitungen erfahren, daß sie mehr zu einer Naturgeschichte für das Gärungsgewerbe und zu einer Einführung in die technische Biologie geworden ist. Schon bei flüchtiger Durchsicht des Inhaltes muß man dem Verf. Recht geben, daß gerade das Gärungsgewerbe mit Organismen bekannt macht, die vor allen andern geeignet sind, den Mittelpunkt und Ausgangspunkt bei dem biologischen Unterricht an höheren Schulen zu bilden. Die Schimmelpilze, Hefen, Bakterien sind vor anderen Organismen geeignet, das Lebewesen allgemein dem Verständnis näher zu bringen; sie lassen sich in einfachster Weise züchten, mikroskopisch wie makroskopisch in ihrer Entwicklung verfolgen. Das Experiment an ihnen läßt ohne große Unkosten in einfachster Weise das Wachstum, Ernährung, Stoffwechsel, Atmung, Wirkung physikalischer und chemischer Agentien zur Anschauung bringen. Das Material ist überall und stets leicht zu haben. Dabei führt dieser Unterrichtsstoff gleich allenthalben so tief in die Praxis des täglichen Lebens hinein wie kein anderer. Die Verteilung der Lebenskeime in Luft, Wasser und Boden, Gärung und Fäulnis, Infektion und Desinfektion, die biologisch begründete Reinlichkeit, Entwicklung und Vermehrung der für die Landwirtschaft und technischen Betriebe wichtigen Kleinwesen sind von solch eminent hoher Bedeutung, daß das vorliegende Buch, welches alle diese Dinge aufs ausführlichste und in zweckmäßigster Weise in lichtvoller, anregender Darstellung behandelt, auch den Lehrern höherer Schulen, die mit der Einführung der Biologie in die oberen Klassen derselben betraut sind zur Benutzung aufs wärmste empfohlen werden kann.

Aus der inhaltreichen **Einleitung** heben wir hier nur hervor die Abschnitte: Licht, Luft und Leben; über das Auge und das Sehen; Geschichte des Mikroskopes und der mikroskopischen Forschung; das Mikroskop und seine Handhabung; pflanzliches und tierisches Leben im Wassertropfen; biologische Selbstreinigung der Gewässer; pathogene Organismen im Trinkwasser und hygienische Wasserbeurteilung; das Essigälchen und die Getreidenematoden, (das leicht züchtbare Eichenälchen, Rhabditis dryophila und die — kürzlich von K. Marcinowski in den Arbeiten aus der Kaiserl. biol. Anstalt f. Land- und Forstwirtschaft Bd. 7. Heft 1. 1909 bearbeiteten — übrigen parasitischen und hemiparasitischen Nematoden finden noch keine Berücksichtigung); Blatt- und Schildläuse (Honigtauproduktion, Schaden in Hopfenkulturen, Schildlaushefe); Mücken und Fliegen (blutbierbrauende Mücken); Milben (auf Gerste und Malz, Essigmilben, Hefe- und Bierfilzmilben); die Essigfliegen; die Fauna der Gersten- und Malzböden; von der Gerstenpflanze (Alter und Herkunft der Kulturpflanze, Bestäubungsverhältnisse, alte und neue Wege der Getreidezüchtung; die bisher auf Gerste beobachteten Pilze, Vegetation auf Malz usw.); die Vegetation eines Pferdeapfels; Erkennung verschiedener Gerstenvarietäten (Feststellung der Zugehörigkeit eines Kornes zu den verschiedenen Varietäten, Vererbungsgesetze; Unkräuter des Gerstenfeldes); Veränderungen von Gerstenkorn während des Mälzungs- und Darrprozesse); von der Kartoffel (Enzymnachweis in der Knolle, Krankheiten); über Hopfen, Kautschukpflanzen und Kork; das biologische Betriebslaboratorium, Herstellung und Aufbewahrung der Nährsubstrate.

Kulturversuche und Untersuchungsmethoden. Die Untersuchung der Luft nach dem Verf. auf ihren Keimgehalt bildet einen der schönsten Schulversuche. Sterile Luftzylinder werden etwa 1 Stunde an verschiedenen Örtlichkeiten, in einem Pferdestall, auf einem Felde, auf der Malztenne, im Gär- und Lagerkeller, im Schulzimmer ausgestellt, dann mit Watte verschlossen. Später — die Keime bleiben lange lebensfähig — wird Gelatine zugegeben und ausgerollt, die an der Glaswand erstarrt. Aus den einzelnen Kolonien entstehen dann die prächtigen Pilzrosen mit den zartesten Struktur- und schönsten Farbenbildern, wie sie Verf. seit Jahren in die Unterrichtspraxis eingeführt hat. Bei Reinkulturen in solchen Gefäßen, z. B. von Penicillium luteum zeigt sich prächtige konzentrische Ringbildung und können die Kulturen geradezu als Tagzähler gebraucht werden wie die Jahresringe eines Baumes als Jahrzähler. Die Schimmelpilze sind in diesen Kulturen leicht an der Struktur, Färbung usw. makroskopisch zu unterscheiden (so Penicillium glaucum, luteum, Cladosporium, Epicoccum purpurascens, Mucorarten, Endomyces decipiens, Oidium lactis, Oidium lupuli usw.). Für mikroskopische Untersuchung der ausgestochenen Kolonien werden besonders einfache Methoden angegeben (so lassen sich 16 bis 20 Kolonien unter einem Deckgläschen festlegen). Soll die Anwesenheit bestimmter Organismen festgestellt werden, so werden besondere Nährmedien verwendet, so für Essigsäurebakterien eine Mischung von gehopfter Würzgelatine mit einigen Zellen einer reingezüchteten Hefe, die nach dem Erstarren mit Calcar carb. praecipitatum puriss. und Wasser übergossen wird (durch Lösung der Kreide entstehen durchsichtige Diffusionsfelder), ebenso für Milchsäurebakterien (die nur kleinere Kolonien und Diffusionsfelder geben; für Sarcinen ist eine Fleischsaft- oder Hefenwassergelatine, für Hefen oder Schimmelpilze Würzgelatine oder Würze und Bier selbst zu verwenden; eine dickere oder dünnere Gelatineschicht, Füllung des Zylinders mit Kohlensäure oder Wasserstoff oder Stickstoff sind dann weitere Erfordernisse beim Nachweis bestimmter Mikroben.

Die vom Verf. 1892 eingeführte Tropfenkultur ist gekennzeichnet durch die Zerlegung der zu untersuchenden Flüssigkeit in einzelne Tropfen, in denen nur eine oder wenige Keime zur Aussaat gelangen.

Weitere Kapitel beschäftigen sich mit der biologischen Würzanalyse, der biologischen Wasseranalyse, der Federstrichkultur oder Tröpfchenkultur (letztere ist sehr leicht zur Reinkultur an Mikroben zu benutzen und ist von besonderem Werte bei der biologischen Analyse gärender oder vergorener Flüssigkeiten; sie liefert auch lebende Dauerpräparate, die monatelang unter dem Mikroskope verfolgt werden können), der biologischen Kontrolle im Gär- und Lagerkeller, dem Vaselineeinschlußpräparat, Untersuchung der Bottich- bezw. Anstellhefe, der Adhäsionskultur. Von den Methoden der Reinkultur werden besonders behandelt die Tröpfchenkultur, die Tuschepunktkultur nach Burri, die Kochsche Plattenkultur und Abänderungen (Esmarchsche Rollkultur, Pinselstrichkultur), die Hansensche Einzellkultur und die Hansensche Verdünnungsmethode, die Reinkultur eines Schimmelpilzes, die genauere Charakterisierung einer in Reinkultur erhaltenen Hefenart. Da

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

bei den Hefen keine so auffälligen Unterschiede in der Form hervortreten wie bei den Schimmelpilzen, sind andere Merkmale besonders ins Auge zu fassen; solche sind unter anderen die Variation der Zellform und der Kolonienbildung bei Oberflächenaussaat, Flächenkulturen, Impfstrichkulturen, Impfstichkulturen, Kultur auf dicker und dünner Gelatineschicht, Riesenkolonien, Sporenbildung und deren Abhängigkeit von der Temperatur, Hautbildung, Heferingbildung, Tötungstemperatur, Verhalten gegenüber verschiedenen Zuckerarten. Die umfassendste Studie machte Verf. mit Hilfe seiner Kleingärmethode im hohlen Objektträger, die sowohl für Hefen wie Schimmelpilze sich eignet und mit der bisher gegen 3000 Gärversuche vorgenommen wurden, weiter wird eine Charakteristik der Hefen durch Assimilationsversuche gegeben (Zucker, Selbstverdauungsprodukte der Bierhefe). Daß nicht nur Kohlenhydrate, sondern auch die letzten Abbauprodukte der Eiweißstoffe, die Aminosäuren einer alkoholischen Gärung durch die Hefen fähig sind, hat F. Ehrlich nachgewiesen; außer Kohlensäure und Alkoholen entstehen dabei Aldehyde und Säuren der verschiedensten Art. Verf. hat auch nachgewiesen, daß die Aminosäuren durch Hefen assimiliert werden können. Diese entnehmen Kohlensäure und Ammoniak und lassen als unverdauliche Exkremente in der Würze Fuselöl, Bernsteinsäure, aromatische Alkohole usw. zurück. Von Hefenenzymen werden erörtert die Oxydase, Hydrogenase, Trypsin, Zymase und die zur Spaltung der Polysaccharide dienenden Enzyme Inulase, Dextrinase, Trehalase, Invertase, Maltase, Laktase, Melibiase, Melitriase. Es folgen die Gärversuche in Bierwürze, die Ernährungsbedingungen der Hefen, Bestimmung ihrer Gärkraft und Triebkraft, die genauere Charakteristik in Reinkultur erhaltener Bakterien, Massenkulturen der Reinhefe (Hefereinzuchtapparate von Lindner, Stockhausen und Coblitz, Hansen, Kontrolle der Apparate, Nathansche Bierbereitung im Hansenapparat), Infektionsquellen im Betrieb und Desinfektionsmittel.

Schimmelpilzkunde. Es werden besonders die für das Gärungsgewerbe wichtigen Vertreter behandelt, um deren Erforschung sich der Verf. besondere Verdienste erworben hat, dabei wird aber eine Übersicht über das ganze Pilzsystem und seine Verwandtschaftsbeziehungen von den Caenomyceten (Eomyces, Prototheca usw.) und Phycomyceten bis zu den höheren Basidiomyceten und Ascomyceten gegeben. Hervorzuheben sind die Beziehungen zu den Gärungsbetrieben bei

Oidium lactis, O. lupuli, O. pullulans n. sp., Sachsia suaveolens (Weinbuketschimmel), Dematium pullulans, Monilia candida, Monilia variabilis, Sarcinomyces crustaceus n. sp., S. albus n. sp., Nectria aquaeductuum, Hyalopus sp., Septosporium bifurcum, Epicoccum purpurascens, Hormodendron cladosporioïdes, die Aspergilleen (Citromyces, Eurotium, Aspergillus, Penicillium, Sterigmatocystis), Mucorarten, Amylomyces, Endomycesarten (E. decipiens, E. vernalis, E. Magnusii, E. fibuliger (Lindner), Eremascus fertilis und albus, von denen die beiden letzten Gattungen nach den neueren Ermittelungen von Guilliermond besonderes Interesse durch ihre verwandtschaftlichen Beziehungen zu den Saccharomyceten haben.

Hefenkunde. Die Hefepilze als die spezifischen Gärungserreger fanden in dem vorliegenden Werke eine breitere Bearbeitung. Verf. gibt zunächst eine Übersicht über die verwandtschaftlichen Beziehungen derselben untereinander und zu den anderen Pilzgruppen auf Grund der Untersuchungen von Brefeld, Claußen, Sadebeck, Guillermond und

Hansen. Danach dürften die Saccharomyceten ihren Anschluß am besten bei den Endomyces-, Eremascus-, (z. T. auch) Exoascus-Gruppen finden. (Was auch die Serumdiagnose von Werner Magnus und Hans Friedenthal bestätigt hat). Nach Hansen gliedert er die echten Saccharomyceten in die Gattungen Saccharomyces, Zygosaccharomyces, Saccharomycodes, Saccharomycopsis, Pichia und Willia, die Gattung Schizosaccharomyces Hansens trennt er unter dem Familiennamen der Schizosaccharomyceten wegen mangelnder Sproßbildung von der Familie der Saccharomyceten ab; Monospora und Nematospora rechnet er mit Hansen zu den zweifelhaften Saccharomyceten. Mehr vom praktischen Gesichtspunkt unterscheidet er Kulturhefen und wilde Hefen. Die biologische Bedeutung der alkoholischen Gärung bezw. der Zymase für die Hefepilze erblickt Verf. in dem Schutz, den diese bei ihrem Eiweißreichtum gegen Fäulnisbakterien und andere Konkurrenten gegen den Alkohol genießen, draußen in der Natur („bierbrauende Bäume“ usw.) aber besonders in der Anlockung der die Hefekeime verbreitenden Insekten durch die flüchtigen weithin riechbaren Gärprodukte und in der Zerstörung des Zuckers und der Verflüchtigung der Gärprodukte, durch die die Hefevegetation lange feucht erhalten bleibt und mehr stickstoffhaltige Substanz zu assimilieren vermag (die Hefe ist ein ausgezeichneter Eiweißsammler und Zuckerzerstörungspilz). Daß das Alkoholgärungsvermögen nicht erst in der Kultur der Hefen seine Ausbildung erhielt, zeigen die gärenden Bäume, der auf Eucalyptusblättern von Pitoy entdeckte direkt als Brauereihefe verwendbare Saccharomyces thermantitonum und die von de Kruyff nachgewiesene Häufigkeit von Unter- und Obergärungshefen in Bodenproben Javas. Verf. schildert und bildet zum Vergleich ab die verschiedenen Zellformen, vegetative Vermehrung durch Sprossung, Spaltung, Mycelbildung, reproduktive Vermehrung durch Sporenbildung, die Vorgänge bei der Sporenbildung, die Sporenformen und die Art der Sporenkeimung, bespricht die neueren Zellkernuntersuchungen, die Inhaltsbestandteile der Hefezellen (Fetttröpfchen, Gerbsäure, Glykogen, Eiweißverbindungen) Wirkung der Peptase in und außerhalb abgestorbener Hefezellen, die Lebensdauer der Hefe, die Zellhaut der Hefe.

Von Kulturhefen sind die ober- und untergärigen verschiedene Arten; erstere geben heftige Kräusen, letztere hefenarme. Bei den untergärigen sammelt sich die produzierte Hefe fast nur am Boden, bei den obergärigen kann man außer der Bodensatzhefe noch eine Deckenhefe erkennen. Die Temperaturunterschiede, denen man früher einen Haupteinfluß auf die Gärung zuschrieb, sind von untergeordneter Bedeutung. Die Oberhefen sind die konstanteren und älteren in der Natur, während die Unterhefen häufiger Zuchten mit Obergärung oder Zwischenstadien geben. Bei dem Degenerieren der Hefe, namentlich solcher, die lange im Betrieb geführt wurde, spielt wahrscheinlich die Giftwirkung der Metalle eine Rolle, weshalb nur metallfreie Wandungen für die Gärgefäße zuzulassen sind. Mikroskopisch ist die Degeneration nicht nachweisbar. Der Reifungsprozeß des Bieres auf dem Lagerfaß ist wesentlich mit auf die Tätigkeit der Kahmhautzellen zurückzuführen. Für den Mediziner ist beachtenswert ein besonderer Abschnitt, der der Hefe als Heilpflanze gewidmet ist. Es werden über 30 Krankheiten aufgeführt, bei denen die Hefetherapie erfolgreich versucht wurde. Teils wird die Hefe selbst äußerlich oder innerlich angewendet, teils in Hefe-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

seifen. Auch ein Hefeserum wurde vielfach mit Erfolg benutzt. Als Futtermittel wie zu technischen Zwecken, in Form von Preßhefe zur Bäckeei, schließlich als Düngemittel findet die Hefe weitere Verwendung. Nach den unter- und obergärigen Hefen finden die Brennerei- und Preßhefen besondere Erörterung. Die wilden Hefen haben in der Natur eine weite Verbreitung und werden bei Luftuntersuchungen häufig, namentlich zur Zeit der Fruchtreife und der Bodenbearbeitung eingefangen. Sie gelangen daher auch häufig in die Gärungsbetriebe, teils als harmlose Gäste, teils die Haltbarkeit, Geschmack oder Geruch des Bieres schädlich beeinflußend; man spricht dann von Krankheitshefen. Höhere Temperaturen führen fast immer zu ihrer Unterdrückung. Für die Praxis am wichtigsten sind diejenigen wilden Hefen, welche mit der Kulturhefe in der Vergärung der in den Würzen vorhandenen Zuckerarten konkurrieren können. Es werden von solchen unterschieden A. Nachgärungshefen mit geringem Sauerstoffbedürfnis. Die meisten von diesen gehören zum Typus Saaz (S. validus, S. ellipsoideus I), die Minderheit zum Typus Frohberg (S. Pastorianus, S. intermedius, S. turbidans, S. cratericus). Kurz besprochen werden Saccharomyces exignus, Saccharomyces pinophthorus melodus und S. p. enervans. B. Luftliebende Nachgärungshefen. 1) Kahmhefen: Sporenbildende Arten sind Pichia membranaefaciens, Willia anomala, W. belgica, Saccharomyces hyalosporus, S. farinosus, S. acetaethylicus; nichtsporenbildende Kahmhefen (Mycodermaarten: Endoblastoderma amycoides, E. liquefaciens, E. glucomyces, E. pulverulentum; 2) Torula- oder Kugelhefen. (Die meisten sind für den Gärungsbetrieb ohne Bedeutung mit Ausnahme der Brettanomycesarten, die für die Nachgärung des englischen Bieres erforderlich sind): Torulaspora Delbrücki, Torula pulcherrima, T. colliculosa usw., Salzhefe der Glärungslake. Von farbigen Hefen werden erwähnt die roten: S. glutinis, Blastoderma salminicolor, Mycoderma rubrum, M. humuli, eine orangefarbige Hefe in armenischem Majun; grüne Hefen, dunkelgefärbte Hefen: Hefen aus verschiedenen Gärungen und von verschiedener Herkunft sind noch: Willia Saturnus, Saccharomycopsis capsularis, S. guttulatus, Saccharomyces Bailii (aus gärendem Syrup), Hansenia apiculata, Majunhefen, Hefen aus Milch, Kefirhefen, Saccharomyces cartilaginosus, S. fragilis, S. acidi lactici, S. minor, S. Hansenii, S. Marxianus, S. Zopfii, S. Ilicis, S. Aquifolii, S. pyriformis, Saccharomycodes Ludwigii. Zur Gruppe der Spalthefen, Schizosaccharomyceten gehören Schizosaccharomyces Pombe, Sch. asporus, Sch. mellacei, Sch. octosporus. Den Schluß bilden Wein- und Obstweinhefen usw. Den letzten Abschnitt bilden **Die Bakterien im Gärungsgewerbe.** Er behandelt zuerst Vertreter der Bakterien der gehopften Würzen der Brauereien, die zahlreichen Wasserbakterien in Würze (z. B. Sarcina alutacea, Bacterium ranicida), Termobakterien der Würze (Termobacterium lutescens, T. fuscescens, T. album, T. iridescens, T. erythrinum), weiter die Urheber der Mehlteiggärung, die Bakterien der Getreidemaischen und der ungehopften Würzen, Butylalkohol und Buttersäuregärung, die

Milchsäurebakterien der Brennereien (Bacillus Delbrücki usw.), der Preßhefe (B. Haydücki, B. Buchneri), des Bieres (Saccharobacillus pastorianus, Bacillus Lindneri), der Milch (Bacillus lactis acidi, Pediococcus acidi lactici, P. viscosus), die Sauerkrautgärung, die Sarcinabakterien, die Essigsäurebakterien (Bacterium aceti, B. Pasteurianum, B. Kützingianum, B. albuminosum, B. friabile, Acetobacter plicatum, Bacterium xylinum usw. usw.

Ludwig (Greiz).

Buchner und **Meisenheimer,** Über die Rolle der Milchsäure bei der alkoholischen Gärung des Zuckers. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. 38. Ergänz. 5. 1909. p. 265.)

Die Verff. haben bei ihren Versuchen festgestellt, daß Milchsäure durch lebende Hefe nicht vergoren wird. Sie werfen im Zusammenhang damit die Frage auf, ob deshalb die Annahme, daß diese Säure ein Zwischenprodukt des Zuckerzerfalls bei der alkoholischen Gärung bildet, verworfen werden muß und bejahen dies im wesentlichen.

Einmal sind sie der Ansicht, daß die Möglichkeit, es sei etwa nicht die richtige Heferasse zu ihren Untersuchungen verwendet worden, keine Bedeutung besitzt. Dagegen wiegt der Einwurf schwerer, daß die Milchsäure vielleicht nur langsam in das Innere der Hefezellen hineindiffundiert, und gerade hierin der Unterschied zwischen Presssaft und lebender Hefe gegenüber Milchsäure begründet ist. Gegen die Annahme des Auftretens der Milchsäure als Zwischenprodukt bei der alkoholischen Gärung spricht aber auch der Unterschied in der Größe der Verbrennungswärmen dieser Verbindungen, und die bei der alkoholischen Gärung des Zuckers überhaupt auftretende Wärmemenge. Unter diesen Umständen muß die Möglichkeit ins Auge gefaßt werden, daß nicht Milchsäure selbst, sondern eine nahe Vorstufe derselben das eigentliche Zwischenprodukt bildet, das meist direkt in Alkohol und Kohlensäure gespalten wird, unter besonderen Umständen sich aber auch in Milchsäure umzulagern vermag. Im Anschluß an einige sich hieran schließende Ausführungen über die während des ersten Abschnittes des Zuckerzerfalles eintretenden Umlagerungen heben die Verff. noch hervor, daß das Auftreten von Glyzerin als konstanten Nebenprodukts der alkoholischen Gärung erhöhtes Interesse gewinnt, weil daraus folgt, daß eine Substanz mit dreigliedriger Kohlenstoffkette in der Tat auch bei Zuckerspaltung durch lebende Hefe auftritt. Ehrenberg (Breslau).

Hayduck, F., Über einen Hefengiftstoff in Hefe. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1909. No. 12/14.)

Die Untersuchungen des Verf. hatten das Ziel, zu ermitteln, ob nicht die Hefe in ihrem reichen Eiweißvorrat Stoffe besitzt, welche ihr ähnlich wie die in verschiedenen Getreidearten beobachteten Giftstoffe unter Umständen gefährlich werden können. Einige orientierende Versuche mit Trockenhefe ergaben das folgende:

1) Aus einer rasch bei hoher Temperatur getrockneten obergärigen Brennereihefe läßt sich mit salzsäurehaltigem Wasser ein Auszug gewinnen, der auf untergärige Bierhefe bei Gegenwart von Rohrzucker eine kräftige Giftwirkung ausübt.

2) Dieselbe Brennereihefe, langsam bei niedrigerer Temperatur getrocknet, gibt an dasselbe Lösungsmittel keinen Giftstoff ab.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

3) Aus keiner der beiden verwendeten Trockenhefen wird durch destilliertes Wasser ohne Säurezusatz ein Giftstoff ausgezogen.

Die Hefengiftstoffe verhalten sich demnach ganz ähnlich wie diejenigen aus Getreide. Weitere Versuche, deren Einzelheiten im Original nachzulesen wären, erstreckten sich auf den Einfluß des Alters, der Menge und des physiologischen Zustandes der Hefe, der Extraktionstemperatur, der Extraktionsdauer, sowie der Art und Menge der anzuwendenden Säure auf die Intensität des Giftstoffes im Auszuge. Nur die Salzsäure erwies sich als brauchbar. In Übereinstimmung mit dem Verhalten der Getreidegiftstoffe wurde auch der aus Hefe stammende Giftstoff durch die Gegenwart von Kalk vollständig entkräftet.

Bei Anwendung von getrockneten Bierhefen ließ sich durch unmittelbare Extraktion mit verdünnter Salzsäure ein für Bierhefe schwach giftiger Auszug gewinnen. Eine stärkere Wirkung wurde erzielt, wenn die Trockenhefe vor der Herstellung des eigentlichen Auszuges mit verdünnter Salzsäure behandelt (entkalkt) wurde; noch besser wirkte eine Vorbehandlung mit destilliertem Wasser. Wurden die Kalksalze aus den fertigen Auszügen durch Dialyse entfernt, so ergab sich ebenfalls eine beträchtliche Verstärkung der Giftwirkung. Es konnte also gezeigt werden, daß nicht nur die Brennereihefe für Bierhefe giftige Stoffe enthält, sondern daß solche auch in der Bierhefe vorhanden sind. Vogel (Bromberg.)

Klöcker, Alb., Deux nouveaux genres de la famille des Saccharomycètes. (Compt. rend. des trav. du Laborat. de Carlsberg. Vol. 7. 1909. Livr. 4. p. 273.)

Die zwei neuen Saccharomyceten-Gattungen zeichnen sich dadurch aus, daß die Membran der Sporen mit kleinen Erhöhungen versehen ist, was früher nicht bei den Saccharomyceten gefunden worden ist. Ihre Stellung im Hansenschen System (Grundlinien z. Systematik der Saccharomyceten, diese Zeitschr. Bd. 12. 1904. p. 529) wird unmittelbar nach der Gattung Zygosaccharomyces sein.

Verf. beschreibt die 2 Gattungen nebst den dazu gehörigen Arten wie folgt:

Debaryomyces nov. gen. Die Spore besitzt nur eine Membran; ihre Oberfläche ist mit sehr kleinen Erhöhungen versehen.

D. globosus nov. sp. Die Zellen der jungen Vegetation in Bierwürze (13 Proz. Ball.) sind bei 25° C. kugelförmig, 4,5—5 μ im Diameter; die Gestalt ändert sich nicht, weder wenn die Züchtungstemperatur höher noch niedriger wird. Die Temperaturgrenzen der Sprossung in Bierwürze sind: Maximum 41,5—43° C., Minimum 5—8° C.

Die Spore ist kugelförmig, 2—3,5 μ im Diameter; ihre Oberfläche ist mit sehr kleinen Erhöhungen versehen, welche nur bei starker Vergrößerung und Immersion deutlich sind; eine Fettkugel (?) sieht man in der Mitte. In den allermeisten Fällen wird nur eine Spore in einer Zelle gebildet, ein einziges Mal sind 2 beobachtet worden. Die Sporen entwickeln sich massenhaft auf Gipsblöcken, z. B. bei 32° C. nach vorausgehender Züchtung der Zellen in Bierwürze. Die Temperaturgrenzen der Sporenbildung sind unter diesen Umständen: Maximum 34—36° C., Minimum ca. 14° C.

Die Riesenkolonien auf Würzegelatine sind nach dem Verlaufe eines Monats bei Zimmertemperatur grauweiß, wachsartig; der Rand beinahe vollständig eben; die Mitte ist etwas erhöht, mehr weiß.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Es findet keine oder jedenfalls nur eine sehr schwache und undeutliche Hautbildung auf Würze statt; nur nach längerem Stehenlassen sieht man eine schwache Hefenringbildung.

Die Art vergärt Dextrose, aber nicht Maltose und Laktose; sie invertiert schnell und stark eine wässerige Saccharoselösung und erzeugt hier eine Gärung. Das Wachstum geht ziemlich schnell vor sich bei 25° C. in Würze und eine Gärung wird hier ebenfalls ziemlich schnell hervorgerufen. In Würze (ca. 13 Proz. Ball.) wurde nach 5 Tagen bei 25° C. nur 1,25 Vol. Proz. Alkohol, und nach 8 Tagen bei der nämlichen Temperatur 1,3 Vol. Proz. Alkohol gebildet.

D. globosus wurde in Erde von St. Thomas (Dänisch Westindien) gefunden.

Schwanniomyces nov. gen. Die Spore besitzt nur eine Membran; ihre Oberfläche ist mit sehr kleinen Erhöhungen und einer hervorspringenden Leiste versehen. Bei der Keimung schwillt nur die eine Hälfte der Spore an und von diesem angeschwollenen Teil geht die Sprossung vor sich.

S. occidentalis nov. sp. Die Zellen der jungen Vegetation in Bierwürze bei 25° C sind öfters ellipsoidisch oder kugelförmig, 5—10 μ im Diameter; nur äußerst selten beobachtet man langgestreckt, wurstförmige Zellen. Bei 36° C oder so sind die Zellen beinahe ausschließlich kugelförmig, bei 8° C. ellipsoidisch, etwas langgestreckt. Die Temperaturgrenzen der Sprossung in Würze sind: Maximum 36—38° C., Minimum ca. 3,5° C.

Die Gestalt der Spore ist gewöhnlich hier eine flachgedrückte Kugel („Wallnuß"), 3—4,5 μ lang. Um die Mitte herum geht eine hervortretende Leiste, und die ganze Oberfläche ist durch sehr kleine Erhöhungen uneben, welche nur bei starker Vergrößerung und Immersion deutlich sichtbar sind. In der Mitte der Spore findet sich eine große Fettkugel (?). Am häufigsten wird nur 1 Spore in einer Zelle gebildet; ein einziges Mal sind 2 beobachtet worden. Nach vorausgehender Züchtung der Zellen in Würze entwickeln sich die Sporen in Gipsblockkulturen z. B. bei 28—32° C. in Menge; außerdem findet auch eine reichliche Sporenbildung z. B. auf Heuabsudgelatine statt. Die Temperaturgrenzen der Sporenbildung auf Gipsblöcken nach vorausgehender Züchtung in Würze sind: Maximum 34—36° C., Minimum 10—13° C.

Die Riesenkolonien auf Würzegelatine sind nach dem Verlaufe eines Monats bei Zimmertemperatur grauweiß, wachsartig oder glänzend; der Rand ist schwach und undeutlich gezähnt. Die Mitte ist nicht oder nur schwach vertieft.

Nach längerem Stehenlassen der Vegetationen in Würze findet sich bisweilen eine mehr oder minder stark entwickelte schleimige Haut; oft beobachtet man eine sehr starke Hefenringbildung.

Die Art vergärt Dextrose, aber nicht Maltose und Laktose. Eine wässerige Saccharoselösung wird langsam invertiert und eine schwache Gärung hierin hervorgerufen; schnell dagegen geht die Inversion in einer Lösung von Saccharose in Hefewasser vor sich. Das Wachstum ist nur ein langsames in Würze und nur eine äußerst schwache Gärung wird hierin hervorgerufen. In Würze (ca. 13 Proz. Ball.) war nach 5 Tagen bei 25° C nur 0,63 Vol. Proz. Alkohol und nach 8 Tagen bei derselben Temperatur 0,94 Vol. Proz. gebildet.

Wurde in Erde von St. Thomas (Dänisch Westindien) gefunden.

Die Abhandlung ist von 6 Abbildungen begleitet.

Klöcker (Kopenhagen).

Ducháček, Franz, Einwirkung verschiedener Antiseptica auf die Enzyme des Hefepreßsaftes. (Biochem. Zeitschr. Bd. 18. 1909. p. 211.)

Kleine Mengen Phenol (0,1 Proz.) schädigen die Gärwirkung des Hefepreßsaftes nur unbedeutend. Eine Konzentration von 0,5 Proz., die jede Lebenstätigkeit aufhebt, setzt die Gärkraft um etwa 40 Proz. herab. Bei 1,2 Proz. wird die Zymase unwirksam.

Geringer Chloroformzusatz (0,5 Proz.) erhöht die Gärungswirkung. Die eben lösliche Menge (0,8 Proz.) schwächt die Gärungskraft nur unbedeutend. Stärkerer Zusatz bewirkt eine auffallende Abnahme der Gärkraft (um 69 Proz. bei 17 Proz. Chloroform). Wahrscheinlich entstehen aus dem Chloroform während der Gärung schädliche Produkte. Kleine Mengen Chloralhydrat (0,7 Proz.), die aber eine vollständige Asepsis gewährleisten, begünstigen die Gärwirkung (bis um 27 Proz.). Dieser günstige Einfluß zeigt sich besonders bei gärungsschwachen Säften. Wahrscheinlich hindert das Chloralhydrat die schädigende Wirkung des proteolytischen Enzyms auf die Zymase. Gegen größere Mengen Chloralhydrat sind die stark wirksamen Säfte widerstandsfähiger als die schwachen. Bei einer Konzentration von 3,5—4,5 Proz. wird die Zymase zerstört.

Benzoesäure und Salicylsäure sind in einer Konzentration von 0,1 Proz., die schon vollständige Asepsis bewirkt, nur wenig schädlich. Erst bei einer Konzentration von 0,2—0,25 Proz. werden 20—35 Proz. der Gärleistung vernichtet. Die Salicylsäure wirkt schädlicher als die Benzoesäure, wahrscheinlich wegen ihrer Phenolgruppe. Die meisten Antiseptica, auch die, die das Gesamtergebnis der Gärung verbessern, üben anfangs eine ungünstige Wirkung aus, d. h. sie zerstören die Zymase. Späterhin wird aber die Endotryptase geschädigt, wodurch die Gärwirkung wieder eine Steigerung erfährt. Besonders auffällig ist diese Erscheinung beim Chloroform und Chloralhydrat, bei denen im Verlauf der Gärung die Gärkraft um 25—30 Proz. gesteigert wird. Auch durch diese Versuche wird der Einwand widerlegt, daß die Gärwirkung des Preßsaftes auf lebendige Protoplasmasplitter zurückzuführen sei, und daher aufs neue bewiesen, daß die durch Hefepreßsaft hervorgerufene Gärung enzymatischen Ursprungs ist.

Kurt Meyer (Stettin).

Ehrlich, Felix, Über die Entstehung der Bernsteinsäure bei der alkoholischen Gärung. (Biochem. Zeitschr. Bd. 18. 1909. p. 391.)

Nachdem Verf. früher gezeigt hatte, daß die bei der alkoholischen Gärung als Nebenprodukte entstehenden Fuselöle aus den Aminosäuren der Leibessubstanz der Hefe stammen, lag die Möglichkeit eines analogen Ursprungs der Bernsteinsäure nahe. Hierfür sprach der Parallelismus in der Ausbeute an Fuselölen und Bernsteinsäure, ferner die Beobachtung, daß Bernsteinsäure auch bei der Selbstgärung und Autolyse der Hefe entsteht, endlich der Umstand, daß es niemals gelingt, die Ausbeute über einen geringen Betrag zu steigern, was der Fall sein müßte, wenn es sich um ein Zuckerspaltungsprodukt handelte.

Als Muttersubstanzen kamen in erster Linie die Aminodicarbonsäuren, besonders die Asparaginsäure in Betracht. Man konnte annehmen, daß unter Ammoniakabspaltung aus Asparaginsäure Bernsteinsäure und aus Glutaminsäure Glutarsäure entsteht. Bei Gärversuchen unter Zusatz der reinen Aminosäuren zeigte sich aber, daß nur aus Glutaminsäure Bernsteinsäure in großen

Mengen entsteht, während die anderen Aminosäuren, auch Asparaginsäure, nur Spuren liefern. Der Mechanismus ist offenbar der gleiche wie bei der Fuselölbildung. Die Hefe spaltet die Aminogruppe ab und verwertet sie zum Eiweißaufbau. Durch diesen Kreislauf des Ammoniaks können große Mengen Bernsteinsäure gebildet werden. Durch Zusatz anderer Stickstoffquellen, Aminosäuren und besonders Ammonsalze, wird die Bernsteinsäurebildung zurückgedrängt. Die Ausbeute an Bernsteinsäure schwankt in weiten Grenzen, sie kann bis 209 Proz. der zugesetzten Glutaminsäure betragen; hierbei entstammt ein Teil der Säure dem zerfallenden Hefeeiweiß. Bei Abwesenheit von Zucker entstehen aus Glutaminsäure nur Spuren von Bernsteinsäure. Offenbar entnimmt die Hefe das zur Eiweißsynthese nötige Stickstoffmaterial dem vergärenden Zucker. Vielleicht hat die alkoholische Gärung überhaupt nur den Zweck, die erforderliche Energie und das Kohlenstoffmaterial für den Eiweißaufbau der Hefe zu liefern. Acetondauerhefe bildet keine Bernsteinsäure aus Glutaminsäure. Wahrscheinlich ist ihre Entstehung wie die des Fuselöls auf die Tätigkeit sehr empfindlicher Enzyme, die bei der Acetonbehandlung zerstört werden, zurückzuführen.

Was den chemischen Verlauf der Bernsteinsäurebildung betrifft, so konnte daran gedacht werden, daß aus Glutaminsäure zunächst unter H_2O- und CO_2-Abspaltung γ-Oxybuttersäure entsteht und diese weiter zu Bernsteinsäure oxydiert wird. Jedoch konnte γ-Oxybuttersäure im Verlauf der Gärung niemals nachgewiesen werden. Verf. nimmt daher an, daß zunächst Oxyglutarsäure entsteht, daß diese in Ameisensäure und den Halbaldehyd der Bernsteinsäure zerfällt und daß der sehr labile Aldehyd sogleich weiter zu Bernsteinsäure oxydiert wird. Aus Asparaginsäure müßte in gleicher Weise der Halbaldehyd der Malonsäure und diese selbst entstehen. Zwar gelang deren Nachweis nicht, es fand sich vielmehr ein wachsartig erstarrendes Öl, das vielleicht ein der Cumalinsäure ähnliches Kondensationsprodukt des Malonsäurehalbaldehydes war. Ein derartiger Abbau der Aminosäuren ist auch bei Einwirkung des Sonnenlichts, des elektrischen Stroms und bei Wasserstoffsuperoxydbehandlung beobachtet worden. Die Bildung von Ameisensäure ist bei der Gärung ebenfalls festgestellt worden. Daß nur geringe Mengen gefunden wurden, könnte dadurch bedingt sein, daß, wie bekannt, Hefe für sich Ameisensäure weiter zerlegen kann, wahrscheinlich in Kohlendioxyd und Wasser.

Der Vorgang der Bernsteinsäurebildung bei der alkoholischen Hefegärung verläuft also in voller Analogie mit der Fuselölbildung, wodurch die für diese entwickelte Theorie eine erneute Bestätigung erfährt. Daß gerade die Bernsteinsäure in erheblicher Menge entsteht, erklärt sich aus dem Glutaminsäurereichtum der Getreidesamen.

Verf. weist darauf hin, daß von den Nebenprodukten der alkoholischen Gärung nur noch das Glyzerin als Zerfallsprodukt des Zuckers in Betracht kommt. Auch für dieses liegt eine Entstehung aus anderen Substanzen, vielleicht Nukleïnsubstanzen, nahe. Damit würde dann die alte Gay-Lussacsche Gärungsformel $C_6H_{12}O_6 = 2\ CO_2 + 2\ C_2H_6O$ von neuem Giltigkeit erlangen. Kurt Meyer (Stettin).

Dzierzbicki, Adam, Einige Beobachtungen über den Einfluß der Humusstoffe auf die Entwicklung der Hefe und auf Alkoholgärung. (Bull. intern. de l'Acad. des scienc. de Cracovie. 1909. p. 651—660.)

Verf. beschäftigt sich mit der Frage, ob es möglich wäre, durch einfache

Ernährungsversuche mit gewissen Mikroorganismen einige Anhaltspunkte zur Beurteilung des Gehaltes verschiedener Bodenarten an assimilierbaren Nährstoffelementen zu gewinnen. Bezüglich der Phosphorsäure ergaben sich positive Resultate, die später publiziert werden. Hier teilt Verf. nur die Ergebnisse bezüglich des Einflusses der Humusstoffe mit:

1) Die Humusstoffe der Ackererde sind imstande, einen sehr günstigen Einfluß auf die Entwicklung der Hefe und auf Alkoholgärung in einer aus H_2O, Glykose, Asparagin und Mineralstoffen bestehenden Lösung auszuüben.

2) Dieser günstige Einfluß äußert sich besonders dann, wenn es sich um Entwicklung der Hefe aus einer sehr kleinen Aussaatmenge handelt. Bei einer reicheren Hefeaussaat entwickelt sich die Hefe auch in humusfreier Lösung gut, so daß dann die Wirkung der Humusstoffe zwar nicht unterbleibt, aber weniger deutlich hervortritt.

3) Der günstige Einfluß der Humusstoffe auf Hefeentwicklung und die genannte Gärung ist aber nicht auf den unmittelbaren Nährwert der Humusstoffe zurückzuführen, sondern muß wahrscheinlich der zur Zeit noch rätselhaften Wirkung dieser Stoffe auf die Entwicklung des Azotobakters und der Stickstoffbindung an die Seite gestellt werden.

Matouschek (Wien).

Hayduck, F., Zur Mechanik und Dynamik der Hefe. (Wochenschr. f. Brauerei, Jahrg. 25. 1908. p. 596—599, m. 6 Fig.)

Verf. bespricht einige Apparate, Vorrichtungen und Kunstgriffe, die Bewegung der gärenden Würzen und Maischen zu regulieren und sie in einer günstigen Weise auszunützen. Während man früher fast ausnahmslos den Einfluß des Luftsauerstoffs im Auge hatte, um zu erklären, daß durch künstliche Bewegung die Gärung gefördert wird, sieht Verf. mit Delbrück in der Bewegung die „Beförderin der Nahrungsaufnahme aus der Gärflüssigkeit durch die Hefe“ und ein „Mittel zur Entfernung der für die Hefe schädlichen Umsatzstoffe der Gärung.“

Schon seit Jahrhunderten sind lediglich auf Grund der praktischen Erfahrung in der Brauerei Hilfsmittel, die Bewegung zu fördern, in Anwendung gelangt. Verf. beschreibt vier Apparate, deren Ziel darin beruht, bei einer im Interesse der Schnelligkeit der Arbeit zu niedrigen Temperatur — durch höhere Temperatur wird das Aufkommen von Parasiten begünstigt — doch eine kräftigere Gärung zu erhalten. Dies geschieht durch starke mechanische Bewegung der Maische während der ganzen Dauer der Gärung. Im ersten Falle hebt eine in der Mitte des Gärbottichs angebrachte archimedische Schraube die unteren Teile der Maische nach oben und läßt sie nach der Bottichwand zu abströmen. Im Falle II bewirkt ein am Boden angebrachtes Flügelrad das Schleudern der Maische gegen die Bottichwand und ein Nachsaugen neuer Maische von oben. Im Falle III wird die Bewegung hergestellt durch die Differenz der spezifischen Gewichte der Maische an verschiedenen Stellen des Gärbottichs. Innerhalb eines im Bottich befindlichen beiderseits offenen cylinderischen Einsatzes wird durch Temperaturerhöhung die Maische zum Steigen gebracht und durch die außerhalb des Einsatzes befindliche schwerere Maische nach oben und aus dem Einsatz herausgedrückt. Der Gärbottich wird in einem kalten Raume aufgestellt, so daß eine genügende Differenz der spezifischen Gewichte der Außen- und der Innenmaische zustande kommt. Im vierten Falle wird dieselbe Bewegung durch einen Luftstrom hervorgerufen, der in die Maische des Einsatzes eingeblasen wird. Die Gefahr, daß durch übermäßige Luftzufuhr Essigbildung eintritt, oder die entweichende Luft Alkohol mit sich fortreißt, wird dadurch auf ein Minimum herabgesetzt, daß mehrere Bottiche in der Weise verbunden werden, daß die mit frischer Maische beschickten mit neuer Luft in Berührung kommen, die weiter vorgegorene Maische enthaltenden durch mehr und mehr an Alkohol bereicherte und an Sauerstoff verarmende Luft in Bewegung gesetzt werden. Die Apparate sind durch schematische Figuren erläutert.

Herter (Montevideo).

Löb, Walther, Über die Aufnahme des Stickstoffs durch Alkohol unter dem Einfluß der stillen Entladung. (Biochem. Zeitschr. Bd. 20. 1909. p. 136.)

Unter der Einwirkung der stillen Entladung entstehen bei gleichzeitiger Anwesenheit von Stickstoff Ammoniak, ameisensaures Ammoniak, Formaldehyd, Hexamethylentetramin und Buttersäure. Wahrscheinlich wird auch eine Aminosäure in Spuren gebildet, doch konnte der sichere Nachweis noch nicht geführt werden. Kurt Meyer (Stettin).

Löb, Walther, Über die Bildung von Buttersäure aus Alkohol unter dem Einfluß der stillen Entladung. (Biochem. Zeitschr. Bd. 20. 1909. p. 126.)

Verf. hatte schon früher die Entstehung von Buttersäure bei der Einwirkung der stillen Entladung auf verschiedene organische Substanzen, wie feuchtes Methan, feuchtes Acetylen, wässrigen Alkohol usw. beobachtet. Die Gelegenheit zur Bildung der Buttersäure muß überall gegeben sein, wo Acetaldehyd entsteht, da dieser über Aldol in Buttersäure übergehen kann:

$$2\ CH_3CHO \longrightarrow CH_3CHOH\ .\ CH_2CHO \longrightarrow CH_3CH_2CH_2CH_2COOH.$$

Acetaldehyd entsteht aber unter den verschiedensten Bedingungen, da er aus Methan und Kohlenoxyd gebildet wird. Sobald die Bedingung zur, wenn auch nur vorübergehenden, Existenz von CO und CH_4 gegeben ist, besteht die Möglichkeit der Buttersäuresynthese. So liefert feuchtes Methan nach der Gleichung $CH_4 + H_2O = CO + 3\ H_2$ Kohlenoxyd, womit die Bedingungen für die Entstehung von Acetaldehyd und weiter von Buttersäure gegeben sind. Allerdings gelang die Isolierung von Acetaldehyd nicht. Es ist aber wohl möglich, daß die Synthese bis zur Buttersäure in einem kontinuirlichen Prozeß verläuft.

Die Entstehung der Buttersäure aus Alkohol erfolgt entweder direkt über intermediär gebildeten Acetaldehyd oder über dessen Zersetzungsprodukte Methan und Kohlenoxyd. Außerdem kann die Bildung vom Methan aus auch über Acetylen erfolgen nach der Formel

$$CH = CH + H_2O = CH_3 - CHO$$

Zwischen diesen Möglichkeiten zu entscheiden, ist sehr schwierig. Die Ausbeuten sind sehr gering, am besten noch bei Verwendung von Alkohol.

Kurt Meyer (Stettin).

Guilliermond, A., Contribution à l'étude cytologique des Endomyces: Saccharomycopsis capsularis et Endomyces fibuliger. (Compt. Rend. de l'Ac. des Sc. T. 147. 1908. p. 1329—1331.)

Saccharomycopsis capsularis wurde von Klöcker zu den Saccharomycetaceen gestellt. Das Genus ist dadurch ausgezeichnet, daß die Ascosporen 2 Membranen besitzen.

Endomyces fibuliger galt dagegen als zu den Endomycetaceen gehörig. Seine Ascosporenhäute sind einschichtig.

Verf. kultivierte beide Pilze auf Mohrrüben, wo beide ein typisches, reich verzweigtes Mycel entwickeln. Jede Zelle enthält nur einen Kern. Es konnte für beide Organismen amitotische Kernteilung nachgewiesen werden, Karyogamie findet nie statt. Hierin, wie in ihrem sonstigen Entwicklungsgang bis auf die Mycelbildung gleichen sie völlig den echten Hefen. Verf. leitet diese von Endomycetaceen ab, welche durch veränderte Lebensweise veranlaßt worden seien die Mycelbildung aufzugeben. Untereinander zeigen beide Pilze so große Übereinstimmung, daß Verf. sie zu derselben Gattung vereint wissen möchte, trotz der doppelten Ascosporenmembran der einen Art. Bezüglich der von Lindner beobachteten Anastomosen des Mycels von Endomyces fibuliger wird konstatiert, daß diese nur zur Zeit der Ascusbildung auftreten. Die anastomosierenden Zellen bleiben entweder durch Zellwände getrennt, oder ihr Inhalt vereinigt sich. Nie tritt jedoch Kernverschmelzung ein. Verf. sieht die Bildung der Anastomosen als ein Rudiment isogamer Kopulation an. Er unterscheidet so bei Endomycetaceen drei Typen der Fortpflanzung: Endomyces Magnusii und Eremascus fertilis besitzen Konjugation, Endomyces decipiens pflanzt sich parthenogenetisch fort und Endomyces fibuliger ist eine Übergangsform, die sich parthenogenetisch fortpflanzt, deren Asci aber die Tendenz zu anastomosieren bewahrt haben.

Herter (Montevideo).

Dombrowski, W., Sur l'Endomyces fibuliger. (Compt. rend. des trav. du Laborat. de Carlsberg. Vol. 7. Livr. 4. 1909. p. 247.)

Endomyces fibuliger wurde zum ersten Male von Lindner gefunden und von ihm einer eingehenden Untersuchung unterworfen. Verf. bestätigt jetzt die Resultate Lindners und fügt neue Beobachtungen zu, indem er die folgenden drei Hauptfragen beantwortet:

1) Auf welche Weise geht die Keimung der Sporen vor sich? 2) Wie ist ihr Bau? und 3) Wie verhalten sich die endosporenbildenden Zellen zu den übrigen Zellen der Art?

Verf, gibt die folgenden Antworten auf diese drei Fragen: 1) Die Keimung der Sporen geht in zwei verschiedenen Weisen vor sich, nämlich nicht nur durch Sprossung, wie Lindner es beobachtet hatte, sondern zugleich durch Keimschlauchbildung, und 2) die Sporen haben zwei Membranen, ein Exosporium und ein Endosporium. In betreff der dritten Frage fand er, daß die Sporen sowohl in denjenigen Zellen, welche durch Sprossung am Mycelium gebildet, als in den Zellen der Mycelfäden selbst gefunden werden, er fand sie aber niemals in den kleineren, rosinenkernförmigen Zellen, welche Lindner Konidien nennt. Damit die Sporenbildung stattfinde, muß immer eine Mycelbildung vorausgehen; in diesem Mycel oder in den daran gebildeten Hefezellen entwickeln sich die Sporen. Es ist also in dieser Beziehung ein deutlicher Unterschied von den Saccharomyceten.

Ferner teilt Verf. die Differentialcharaktere zwischen E. fibuliger und den am besten bekannten zwei Endomycesarten, nämlich E. decipiens und E. Magnusii, mit. Er zeigt, wie E. fibuliger einerseits sich den Saccharomyceten nähert und zwar rücksichtlich der stark entwickelten Sprossungsfähigkeit und der Unregelmäßigkeit in betreff der Morphologie der Asci und der Anzahl der Sporen, samt seiner Gärungsfähigkeit, andererseits aber, wie die Art sich von dieser Familie trennt und zwar dadurch, daß die Asci sich nicht direkt von jeder Hefezelle entwickeln können, sondern nur nach vorausgehender Mycelbildung gebildet werden, und außerdem dadurch, daß die Sporen sowohl durch Keimschlauch als durch Sprossung keimen. Die Charaktere der Familie der Saccharomyceten sind hier genommen, wie sie von E. Chr. Hansen in seinen „Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten", diese Zeitschr. 12. Bd., 1904. p. 529, angegeben sind.

Unter den Saccharomyceten ist Willia anomala Hansen diejenige Art, mit welcher E. fibuliger die nächste Ähnlichkeit darbietet, indem die Sporen auch bei dieser Art hutförmig sind. Da es, Hansens Angaben zuwider, angeführt worden ist, daß die Sporen der W. anomala eine aus zwei Membranen bestehende Wand besitzen, so hat Verf. eine Untersuchung dieses Verhaltens und der Keimung der Sporen aufgenommen, und als Resultat konnte er die früheren Mitteilungen Hansens bestätigen, nämlich daß die Sporen dieser Art nur eine Membran haben und daß die Keimung nur durch Sprossung vor sich geht. Also immer eine große Differenz zwischen den beiden in Vergleich gezogenen Arten. Zuletzt gibt Verf. ein ausführliches Literaturverzeichnis. Die Abhandlung ist von 10 Abbildungen begleitet. Klöcker (Kopenhagen).

Klöcker, Alb., Endomyces javanensis nov. sp. (Compt. rend. des trav. du haborat. de Carlsberg. Vol. 7. 1909. Livr. 4. p. 267.)

Verf. gibt die folgende Beschreibung dieser neuen Art:

Die Vegetation besteht teils aus Hefezellen, teils aus Mycelium. Die Hauptmenge der Zellen in der jungen Vegetation in Bierwürze (13 Proz. Ball.) bei Zimmertemperatur und bei 25° C. besitzt Zitronengestalt, aber auch viele spindelförmige, ellipsoidische, kugelförmige, wurstförmige, sehr langgestreckte, kurz, so gut wie alle Zellgestalten werden gefunden. Schnell wachsen die Hefezellen in ein typisches Mycelium mit deutlichen Querwänden aus. Die Größe der Hefezellen variiert sehr; durchschnittlich sind die zitronenförmigen Zellen in der jungen Kultur 7—9 μ lang von der einen Spitze zur anderen. Bei höheren Temperaturen (32—36° C.) ist die Zellgestalt im wesentlichen dieselbe; bei 10° C. findet man viele kugelförmige Zellen, welche etwas größer als die Zellen bei Zimmertemperatur sind.

Da das Wachstum bedeutend schneller in einer Mischung von gleichen Teilen Würze und Wasser als in reiner Würze vor sich geht, sind die Temperaturgrenzen des vegetativen Wachstums in einer solchen verdünnten Würze bestimmt: Maximum 36—38° C. Minimum 5—10° C.

Die Sporen sind ellipsoidisch oder wie eine etwas flachgedrückte Kugel; ihre Membran ist mit mehr oder minder deutlichen, kleinen Erhöhungen besetzt; doch findet man bisweilen einige, welche beinahe oder ganz glatt sind. Um die Mitte der Spore herum geht eine scharf hervortretende Leiste; letztere ist bisweilen so sehr nach der einen Seite hin gerückt, daß die Spore dadurch beinahe hutförmig wird. Dies ist besonders der Fall, wenn 2 Sporen zusammen in einem Ascus sind. Die Größe der Sporen ist: 3—4,5 μ lang und 2—3 μ breit. Sie besitzen nur eine Membran und werden in außerordentlich großer Menge sowohl in verschiedenen Nährflüssigkeiten als auf festen Nährböden und auf Gipsblöcken gebildet. Sie treten sowohl in den Hefezellen als im Mycelium auf. Es findet sich keine differentierte Asci. Die Temperaturgrenzen ihrer Entwicklung auf Gipsblöcken nach vorausgehender Züchtung der Zellen in mit gleichen Teilen Wasser versetzter Würze sind: Maximum 34—36° C., Minimum 5 bis 10° C.

Die Keimung der Sporen geschieht in zweierlei Form, entweder durch Sprossung oder durch Keimschlauchbildung.

In alten Vegetationen in Würze entwickelt sich an der Oberfläche der Flüssigkeit den Seiten des Kolben entlang eine starke Hefenringbildung, welche zu einer Decke an der Oberfläche auswachsen kann; durch die leichteste Bewegung sinkt die Decke auf den Boden nieder.

Die Riesenkolonien auf Würzegelatine haben ein schleimiges Aussehen; ihre Oberfläche ist sehr stark gefaltet, die Mitte etwas vertieft, der Verflüssigung der Gelatine wegen, welch letztere übrigens sehr langsam vor sich geht. Die Kolonien in Plattenkulturen in Würzegelatine besitzen öfters ein zottiges Aussehen, ist doch die Oberfläche feucht, glänzend.

In Nährflüssigkeiten ist das makroskopische Aussehen der Vegetationen am nächsten wie Schimmelpilzmycelium; durch eine leise Bewegung verteilen sich jedoch die Zellen in der Flüssigkeit, die dadurch ein gleichartiges, trübes Aussehen annimmt.

Die Art kann keine Gärung in einer Dextroselösung hervorrufen und nicht eine Saccharoselösung invertieren.

Wurde in Erde von Java gefunden.

E. javanensis steht in mehreren Beziehungen E. fibuliger Lindner nahe, unterscheidet sich aber u. a. scharf von dieser Art durch den Bau der Sporen.

Die Abhandlung ist von 3 Figuren begleitet.

Klöcker (Kopenhagen).

Guillermond, A., Sur la reproduction sexuelle de l'Endomyces Magnusii Ludwig. (Compt. rend. de l'Académie des Sciences. Paris, 5. April 1909.)

In Wiederaufnahme und Fortsetzung der Arbeiten von Ludwig, Brefeld, Dangeard über den Endomyces Magnusii, hat der Verf. feststellen können, daß dieser Pilz vor der Bildung der Schläuche eine richtige heterogame Verschmelzung durchmacht. Die beiden Gameten sind in Bezug auf Größe und Gestalt äußerst verschieden und spielen bei der Befruchtung eine ganz verschiedene Rolle.

Er konnte in Kulturen auf Möhren in Rouxschen Röhrchen Schläuche bekommen, aber nur bei 3 Proz.

Die Mutterzelle des Oogons endigt in einen Faden; sie ist länglich, enthält ein dichtes Protoplasma mit zwei oder drei Kernen. Das Ende biegt sich bald kreuzförmig um, gleichsam als wollte es einen Antheridienfaden erreichen. In diesem umgebogenen Teil findet sich nur ein Kern. Der antheridiale Teil hat am Ende eine schneckenartig gekrümmte Zelle mit spärlichem Protoplasma, mit zwei bis drei Kernen. Dies ist die Mutterzelle des Antheridiums. Wenn die beiden Äste sich treffen, kommt es zu einer Verschmelzung Die Spitze der Antheridienmutterzelle heftet sich an der Spitze der Oogonmutterzelle an und bildet dort eine Anschwellung, wo sich einer der Kerne befindet; eine Scheidewand trennt diese Anschwellung ab, welche das eigentliche Antheridium bildet. Dann wird diese die beiden Gameten trennende Scheidewand resorbiert und die Verschmelzung geht vor sich. Meist trennt sich auch gerade in demselben Augenblick das Oogon von der übrigen Mutterzelle durch eine Querwand; so bildet sich auch eine Art Stiel an der Basis des Eies. Sobald sich die Kerne vollständig verschmolzen haben, vergrößert sich das Ei bedeutend. Der Kern, der sehr groß ist, und eine sehr deutliche Zeichnung hat, teilt sich zweimal in je zwei Teile, so daß vier Sporen entstehen, welche im ausgewachsenen Zustande ziemlich viereckig aussehen.

J. Beauverie (Lyon).

Buchner, Eduard, und **Wüstenfeld, Hermann,** Über Zitronensäuregärung durch Citromyceten. (Biochem. Zeitschr. Bd. 17. 1909. p. 395.)

Verff. arbeiteten mit einem aus einer verschimmelten Apfelsine gezüchteten Citromyces citricus. Als günstigste Nährlösung erwies sich ein Absud von weißen Bohnen. Zusatz von Calciumkarbonat steigert die Ausbeute an Zitronensäure, da die gebildete Säure in freiem Zustande weiter zersetzt wird; dies spricht dafür, daß die Zitronensäure kein unbrauchbares Nebenprodukt der Zuckerassimilation, sondern eine Durchgangsstufe bei den Oxydationsvorgängen bildet. Bei Kreidezusatz kann die Ausbeute 55 Proz. des Zuckergewichtes und das 3-fache des Mycelgewichtes erreichen. Geringe Schichtdicke und geringer Stickstoffgehalt der Nährlösung begünstigen die Säurebildung. Sie setzt erst ein, wenn der größte Teil des Stickstoffs zur Mycelbildung verbraucht ist, etwa nach 1½ Woche. Die höchste Intensität der Säurebildung wurde sowohl mit wie ohne Kreidezusatz zwischen dem 10. und 14. Tage beobachtet. Neben der Zitronensäure entsteht Kohlendioxyd; Alkohol, Essig-, Milch-, Oxal- und Bernsteinsäure konnten nicht nachgewiesen werden. Der Anteil des Zuckers, der als Kohlendioxyd erscheint, bleibt ziemlich konstant (48—62 Proz.). Dagegen nimmt der Prozentsatz, der zu Zitronensäure verarbeitet wird, allmählich zu. Der Anteil des zur Mycelbildung verarbeiteten Zuckers nimmt stark ab, so daß nach 4 Wochen nur 5 Proz. des verbrauchten Zuckers auf das Mycelgewicht treffen, während alles andere in Kohlendioxyd und Zitronensäure übergegangen ist. Wahrscheinlich werden bei Erschöpfung des Zuckervorrats Teile des Mycels in Kohlendioxyd oder Zitronensäure verwandelt. Im Vacuum wird ebenfalls Zitronensäure gebildet, wobei ein beträchtlicher Teil des Pilzmycels (z. B. 40 Proz.) verschwindet. Neben Zitronensäure und Kohlendioxyd konnten im Vacuum auch kleine Mengen von Äthylalkohol nachgewiesen werden. Die verschiedenen Möglichkeiten der Zitronensäurebildung aus Zucker suchten Verff. experimentell zu prüfen. Die Entstehung über Oxalessigester-Aconitsäure ist nicht wahrscheinlich, da Zusatz von Essig- und Oxalsäure zum Gärungsversuch die Ausbeute nicht steigert. Die Annahme, daß die Zitronensäure ein Dissimilationsprodukt des Pilzplasmas darstellt, analog der Entstehung des Fuselöls, ist wenig wahrscheinlich, weil aus Leucin durch die Citromyceten kein Amylalkohol gebildet wird. Möglich ist es, daß die Zitronensäure auf dem Wege über die Parasaccharinsäure, die das gleiche Kohlenstoffskelett besitzt, entsteht; doch konnten bisher hierfür Anhaltspunkte noch nicht gefunden werden. Versuche, durch Darstellung von Preßsaft oder Acetondauerpräparaten die Zitronensäuregärung zellfrei vor sich gehen zu lassen, gelangen nicht. Es ist wahrscheinlich, daß viele Enzyme an dem Gärungsvorgang beteiligt sind, von denen das eine oder andere geschädigt werden könnte. Bei der Acetonbehandlung des Citromyceten gingen in das Aceton d-Mannit, Cholesterin und Fett über.

Kurt Meyer (Stettin).

Cluß, Adolf, Fermentative oder chemische Säuerung in der Brennerei. (8. Congrès internat. d'Agricult. Vienne 1907. Rapports. Section V—VII. Vol. 3. Section VIc. Referat 2. Wien 1908. p. 1—10.)

Eine Frage „chemische oder fermentative Säuerung“ gibt es eigentlich nicht, da sich ein dem jeweilig in Frage kommenden Produktionszweck der Brennerei entsprechender Säuregrad des Hefegutes sowohl auf fermentativem Wege, d. h. durch Erzeugung von Gärungsmilchsäure im Hefegute selbst, als auf chemischem, d. h. durch Zusatz mineralischer oder organischer Säuren zum Hefegut erreichen läßt.

2) Die Säuerung auf chemischem Wege darf aber deshalb als die rationellere Arbeitsweise angesehen werden, weil die fermentative Säuerung, abgesehen von der größeren Umständlichkeit der Durchführung, unstreitbar gewisse Gefahren in sich schließt, daher ein zweischneidiges Schwert ist, vor allem aber, weil die fermentative Bildung von Milchsäure immer auf Kosten gärungsfähigen Materials stattfindet, wodurch unbedingt die Spiritusausbeute geschmälert werden muß.

3) Von einer rationellen Durchführung der chemischen Säuerung kann man nur dann sprechen, wenn entweder die Hefe an bestimmte Säuremengen akklimatisiert ist oder sie unter Lebensbedingungen gebracht wird, welche einerseits ihre Gärkraft erhöhen und anderseits ihre Säureempfindlichkeit modifizieren oder schließlich, wenn für eine gewöhnliche nicht akklimatisierte oder unter besonderen Bedingungen ernährte Hefe die jeweilig zuträgliche Säureform und Säuremenge genau fixiert wird.

4) Durch die Arbeiten von Effront, Maercker, Cluß, Bücheler, Rothenbach, Lange, Bauer usw., welche zur Ausbildung bestimmter als mehr oder minder einwandfrei rationell zu bezeichnender Säuerungsverfahren geführt haben, ist aber auch die Frage der chemischen Säuerung als vollkommen gelöst zu betrachten und es besteht deswegen für weitere Patenterteilungen keine Berechtigung. Die chemische Säuerung soll Gemeingut des Brennereigewerbes werden.

Matouschek (Wien).

Heyer, Fermentative oder chemische Säuerung in der Brennerei. (VIII. Congrès internat. d'Agricult. Vienne 1907. Rapports. Bd. III. Section VI/c, Referat 2. Vienne 1908. p. 1—10.) —

1) Der jeweils erforderliche Säuregrad des Hefengutes im Brennereibetriebe läßt sich auf chemischem Wege leichter herstellen als mit Hilfe von Bakterien und es führt die richtig angewandte chemische Säuerung mit größerer Sicherheit zu guten Resultaten als die fermentative.

2) Sie ermöglicht Ersparnisse an Zeit, Arbeit und Brennmaterialien bei besserer oder wenigstens gleichbleibender Spiritusausbeute und größerer Reinheit des Alkohols und der Schlempe gegenüber der bakteriellen Säuerung.

3) Die nach dem Prinzipe des patentierten Büchelerschen Verfahrens mittels Mineralsäure bewirkte Säuerung kann sich der billigsten Säure bedienen, und erreicht alle Vorteile der chemischen Säuerung ohne Verwendung aklimatisierter oder reingezüchteter Heferassen, unter Verzicht auf eine Wärmekammer, Sterilisation des Hefengutes und Zuführung von besonderen Desinfektions- oder Hefenährmitteln.

Matouschek (Wien).

Winkler, W., Die Verwendung von Reinkulturen in der Molkereipraxis. (8. Congrès internat. d'Agricult. Vienne 1907 [1908]. Bd. 2. Sektion IV/A. Referat 6. p. 1—9.)

1) Aus pasteurisierter Milch lassen sich durch Verwendung gewisser Reinkulturen wohlschmeckende und diätetisch wertvolle Getränke und Speisen bereiten.

2) Mit allem Eifer ist anzustreben, die Butterbereitung auf jener hohen

Stufe der Vollkommenheit zu erhalten, die durch die Anwendung von Rahmsäuerungsreinkulturen in Verbindung mit einer ausreichenden Pasteurisierung des Rahms hervorgebracht wurde.

3) Erfolgreiche Anwendungen von Reinkulturen in der Molkereipraxis sind auch bei einzelnen Käsesorten (französischer Weichkäse, Emmentalerkäse, Parmesankäse) zu verzeichnen und es ist nur eine Frage der Zeit, daß auch in der Käserei durch Reinkulturen eine Steigerung der Qualität und eine größere Betriebssicherheit zu erzielen sein werde.

4) Das genaue Studium der für den Molkereibetrieb wichtigen Mikroorganismen sollte in staatlichen Instituten durchgeführt werden; sie sollten auch die Herstellung von Reinkulturen sowie die Kontrolle der im Handel vorkommenden Reinkulturen übernehmen.

5) Die Veredelungsbakterien sind ohne Zweifel aus gewöhnlichen Bakterien hervorgegangen; sie bilden viele physiologische Varietäten, die leicht bei längerer Fortpflanzung der Reinkultur entarten können. Man muß wie bei der Hefe die richtigen physiologischen Varietäten herausfinden.

(Matouschek (Wien).

Kersten, H. E., Über die Haltbarkeit der Diphtherie- und Paratyphus B-Bacillen in der Milch. (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 30. 1909. p. 341 ff.)

Die bekannte Tatsache, daß viele menschliche Infektionskrankheiten durch Genuß von Milch auf die trinkende Person übertragen werden können, indem der spezifische Erreger entweder vom Tiere selbst oder durch einen Zwischenträger auf irgend eine Weise in die Milch gelangt, ist ganz besonders durch einwandfreie Beobachtungen von dem Typhus, der Tuberkulose und der Cholera festgestellt und auch das biologische Verhalten dieser Erreger in Milch ist bekannt. Bezüglich der Übertragung von Diphtherie durch Milch haben eine Anzahl von Forschern ermittelt, daß nur solche Personen erkrankten, welche von einem bestimmten Händler gelieferte Milch genossen haben und in einzelnen Fällen war sogar die Ermittelung jener Person, welche die Milch mit Diphtheriebacillen infiziert hatte, mit Sicherheit zu ermöglichen. In keinem der beschriebenen Fälle waren jedoch die spezifischen Erreger isoliert worden, entweder war überhaupt jeglicher Versuch unterblieben oder er war negativ ausgefallen, sei es infolge der früheren noch mangelhaften Technik oder aus anderen Gründen. Jedenfalls sind vom Verf. die eingangs seiner Arbeit angeführten Versuche nicht als einwandfrei angesehen worden und erst in späteren englischen Arbeiten gelang es u. a. Dean und Todd echte Diphtheriebacillen aus geschwürigen Veränderungen an der Zitze der Kuh, aus der Milch selbst und aus dem Mundbelag der Frau, welche Milch getrunken hatte, zu züchten. Der Krankheitsprozeß am Kuheuter hatte nichts mit Diphtherie zu tun und wahrscheinlich waren Bacillen durch Spucken in die Hände des Melkers in die Wunden der Zitze gelangt. Ashby wies ebenso in den Ulcerationen von Zitzen der Milchkühe virulente Diphtheriebacillen nach und Marshall überimpfte bei einer Diphtherieepidemie die als Überträgerin beschuldigte Milch auf Meerschweinchen, welche mit spezifischem Befunde eingingen, während aus der Injektionsstelle typische Diphtheriebacillen gezüchtet werden konnten. Nach Anführung weiterer diphtheritischer und ähnlicher Erkrankungen und einschlägiger Beobachtungen ersehen wir, daß eine sichere Grundlage für die Annahme einer Verbreitung der Diphtherie durch Tiere nicht vorhanden ist, da in jedem der beschriebenen Fälle die Milch direkt oder indirekt vom Menschen infiziert war. Daher ist die weitere Frage wichtig, ob die Milch in rohem und ungekochten Zustande ein geeigneter Nährboden für Diphtheriebacillen ist und so lange sie zum Genusse tauglich ist, eine Gefahr für den Menschen bezüglich der Übertragung der Diphtherie darstellt. Infolge dieser Erwägung haben eine Anzahl von Forschern durch künstliche Infektion von Milch mit Diphtheriebacillen die in Betracht kommenden Wachstumsverhältnisse genauer untersucht; so fand Montefusco, daß der Diphtheriebacillus schon nach 24 Stunden in roher Milch seine Virulenz verliert und nach 3 Tagen nicht mehr lebensfähig ist, während er in sterilisierter Milch gut gedeiht. Vladirinow hatte ähnliche Ergebnisse, während Schottelius und Ellerhorst zwei Jahre später fanden, daß die Diphtheriebacillen in frischer Milch bei Zimmertemperatur sich beträchtlich vermehren und nach 48 Stunden unzählbare Kolonien bilden, während sterilisierte Milch sehr rasch schädigend und nach wenigen Stunden abtötend wirkt; von weiteren Forschern werden noch Feinberg und Betzy Meyer genannt. Die sich widersprechenden Resultate gaben dann am Kaiserlichen Gesundheitsamte Veranlassung zur abermaligen Prüfung des Verhaltens der Diphtheriebacillen in frischer roher und in sterilisierter Milch in Bezug auf Wachstum und Virulenz. Gestützt auf die Erfahrungen der früheren Forscher und nach eigener Anordnung stellte Verf. sechs Versuchsreihen an, deren Ergebnisse in den folgenden Sätzen niedergelegt sind:

Die rohe Handelsmilch ist ein ziemlich guter Nährboden für die Diphtheriebacillen. Bei Versuch I und II konnte eine beträchtliche Vermehrung der Diphtheriebacillen in ihr konstatiert werden, bei den übrigen Versuchen trat keine Verminderung derselben ein, ihre Anzahl erhielt sich auf gleicher Höhe, in längstens 63 Tagen waren sie in der Milch abgetötet. Diese Ergebnisse stimmen also im allgemeinen mit denen von Schottelius, Ellerhorst, Feinberg und Eyre überein, während Montefuscos und Betzy Meyers Untersuchungen gegenteilige Resultate ergeben haben.

Bezüglich der sterilen Milch konnten dagegen die Untersuchungsergebnisse der beiden letzten Autoren bestätigt werden, die Haltbarkeit der Diphtheriebacillen war — mit Ausnahme derjenigen in der eisgekühlten Milch, in welcher sie 47 Tage lang nachgewiesen werden konnten — in ihr eine außerordentlich große, noch nach einem halben Jahr konnten aus ihr Diphtheriebacillen, die keine Wachstumshemmungen zeigten, isoliert werden, Resultate, die im Gegensatz zu denen von Schottelius, Ellerhorst und Feinberg stehen. Die Virulenz der Diphtheriebacillen, die nach Montefusco in der rohen Milch eine von Anfang des Versuches beginnende fortschreitende Herabsetzung erfahren soll, war weder in der rohen noch in der sterilisierten Milch bei sämtlichen Versuchen Schwankungen unterworfen; so konnte auch ein Einfluß der Reaktion der Milch auf die Virulenz der Stämme, wie ihn Feinberg gefunden hat, nicht festgestellt werden. Immer bewahrten die Bacillen ihre typischen biologischen Eigenschaften. —

Nach diesem Abschlusse wurden die Versuche noch auf die Paratyphus B-Bacillen, deren Vorkommen in Nahrungsmitteln in letzter Zeit öfters konstatiert worden ist, ausgedehnt, da es sich auch hierbei darum handelte, ob die rohe Milch ein geeigneter Nährboden für diesen Bacillus sei und eine Übertragungsmöglichkeit auf den Menschen in Betracht kommt. Die Stellung dieser Frage war um so berechtigter, als bis jetzt nur eine Arbeit von Broers bekannt ist, welche nachwies, daß der Paratyphus B-Bacillus in Buttermilch eine größere Haltbarkeit als der wirkliche Typhusbacillus besitze.

Bezüglich der Frage, wie die Paratyphus B-Bacillen in die Milch gelangen, erfahren wir durch Fischer, daß dieselben beim Rindvieh vorkommen und die Ausscheidung wie beim Menschen durch Kot und Harn erfolgt; es ist demnach bei erkrankten Kühen eine Infektion der Milch sehr denkbar. Ob nun die Keime, welche das Milchdrüsenfilter passiert haben, wirklich primär in der Milch ausgeschieden wurden, oder beim Melkakt vom beschmutzten Euter aus in die Milch gelangten, ist gleichgültig. Dazu kommt noch, daß die Milchhändler die aus verschiedenen Ställen stammende Milch vermischen, und falls hierbei eine solche von mit Paratyphus B-Bacillen behafteten Kuh produzierte darunter ist, die ganze Milchmenge infiziert wird und die Milch als guter Nährboden die zur Vermehrung geeigneten Verhältnisse bietet. Auch die Neigung, daß der Paratyphus B-Bacillus nach Baehr Abszesse verursacht, kann Euterentzündungen hervorrufen und so die Möglichkeit des Einfallens von Keimen in die Milch erklärlich machen. Auch verbotene (Tauf)-Zusätze von entsprechend keimhaltigem Wasser sind zu erwägen. Allerdings muß solches doch selten vorkommen, denn weder Kersten noch ebensowenig Hübener ist es gelungen, aus 60 Milchproben verschiedenster Provenienz auf Löfflerschen Malachitgrünagarplatten Paratyphus B-Bacillen nachzuweisen. Besonders sei an dieser Stelle hervorgehoben, daß Hogcholera-, Mäusetyphus-, der Psittakosebacillus und eine bestimmte Art von Fleischvergiftungsbakterien noch heute vom Paratyphus B-Bacillus nicht sicher zu unterscheiden sind. Die Bakterien der Paratyphus B-Bacillengruppe finden sich nicht nur bei den betreffenden kranken Individuen, sondern auch in der Außenwelt und so kann aus dem Auffinden von Bakterien genannter Art in Milch oder nach dem Genuß derselben aufgetretenen Erkrankung beim Menschen nicht ohne weiteres auf einen kausalen Zusammenhang zwischen Bakterien und Krankheit geschlossen werden. — Nach Aufzählung der in der Literatur bis jetzt bekannten diesbezüglichen Erfahrungen geht Verf. auf seine Versuche über, welche feststellen sollten, ob die rohe Handelsmilch als Nährboden für die Paratyphus B-Bacillen geeignet sei und zu ihrer Vermehrung ohne Virulenzschädigung beitragen könne. Es ergab sich eine Haltbarkeit dieser Bakterienart in eisgekühlter Milch von 61, in Milch von Zimmertemperatur von 64 Tagen. Bei 37° C. konnten noch nach 4½ Monaten unendliche Zahlen nachgewiesen werden. Die Virulenz war bei sämtlichen Versuchen keiner Schwankung unterworfen. Bezüglich der Reaktion der Milch ist zu erwähnen, daß sie bei Eisschrankaufbewahrung bereits nach drei Tagen sauer war und bei den übrigen Proben nach den ersten Tagen alkalisch, später amphoter reagierte. Ferner haben die begleitenden Heubakterien und Milchsäureerreger die Versuche in keiner Weise erschwert, da die Löffler malachitgrünagarplatte diese Keime vorzüglich zurückhielt. Sonach ist die rohe Handelsmilch zweifellos als guter Nährboden für Paratyphus B-Bacillen anzusprechen und damit die Möglichkeit der Verbreitung der Diphtherie und der letztgenannten Bakterien durch die Milch gegeben, wie Kerstens Versuche klar bewiesen haben. Es sind infolgedessen in einschlägigen Fällen Maßnahmen zu treffen, welche eine Weiterverbreitung dieser Krankheiten durch Milch verhindern.

Auf die Literaturangaben über diese wichtigen Fragen sei noch besonders verwiesen. Rullmann (München).

Digitized by Google · Original from UNIVERSITY OF IOWA

Rogers, L. A., Fishy flavor in butter. (U. S. Dept. of Agriculture. Bur. of Animal Industry. Circ. 146. April 1909.)

Fischige Butter ist seit langer Zeit auf dem amerikanischen Buttermarkt sehr gefürchtet. Besonders der mittlere Westen der Vereinigten Staaten hat stark darunter zu leiden. Der fischige Geschmack scheint sich auf gewisse Gegenden, oft auf einzelne Molkereien zu beschränken; er entwickelt sich in der ursprünglich tadellosen Butter nach kürzerer oder längerer Zeit.

Diese Zersetzung der Butter ist verschiedentlich erklärt worden. Verf. konnte die Behauptung O'Callaghans, daß Oidium lactis diesen Geschmack erzeuge, nicht bestätigen. Auch eiweißzersetzende Bakterien waren nicht imstande, weder in Reinkultur noch in Mischung, Butter fischig zu machen. Selbst der Zusatz von Trimethylamin änderte den Geschmack nicht wesentlich. Die fischig schmeckende chemische Verbindung ist weder Base noch Säure und ist mit Wasserdampf flüchtig. Das einzige was in den durch fischige Butter geschädigten Molkereien als Anhaltspunkt dienen konnte, war die regelmäßige Gegenwart stark säuernder Bakterien. Die Säure hat offenbar einen großen Einfluß auf die Geschmacksveränderungen in Lagerbutter. In vier Versuchsreihen wurde gezeigt, daß Butter von überreifem Rahm fischig wird. Auch der Zusatz von Milchsäure oder Essigsäure zu pasteurisiertem Rahm gab fischige Butter. Es ist jedoch keinesfalls die Regel, daß saurer Rahm stets fischige Butter gibt. Zu starkes Kneten erwies sich ebenfalls als ein ziemlich gutes Mittel zur Erzeugung fischigen Geschmacks; es verursacht ein Überladen der Butter mit Luft. Verf. glaubt, der fischige Geschmack sei hervorgerufen durch eine langsame chemische Umsetzung, bei der Säure und Sauerstoff wesentliche Faktoren sind.

Otto Rahn (East Lansing, Mich.).

Rogers, L. A., and **Gray, C. E.,** The influence of acidity of cream on the flavor of butter. (U. S. Dept. of Agriculture, Bur. of Animal Industry. Bull. 114. Juni 1909.)

Diese Arbeit ist gewissermaßen eine Fortsetzung der Arbeit von Rogers über den fischigen Geschmack der Butter. In verschiedenen Molkereien wurde vom gleichen Rahm Butter in verschiedener Weise hergestellt, von süßem, gereiftem und überreifem Rahm, pasteurisiert und unpasteurisiert. Gewöhnlich, aber nicht regelmäßig, hielt sich die Süßrahmbutter bei Temperatur unter 0° besser.

Die bakteriologischen Untersuchungen gaben keine bemerkenswerten Resultate. Die Gesamtzahl zeigte eine Abnahme, die bei den tiefsten Lagerungstemperaturen (—23° C) gering, beim Gefrierpunkt recht erheblich war. Enzyme können zur Erklärung der Umsetzungen ebensowenig dienen wie die Bakterien, da auch Butter aus reifem, nachträglich pasteurisiertem Rahm verdarb. Zusatz von Säuren, selbst Salzsäure, zu pasteurisiertem Rahm gab eine sehr schnell verderbende Butter.

Die Verff. empfehlen für Lagerbutter die Verwendung süßen Rahms und geben Vorschriften für deren Herstellung.

Otto Rahn (East Lansing, Mich.).

Harding, H. A., and **Prucha, M. J.,** The bacterial flora of cheddar cheese. (New York Agr. Exp. Stat. Technical Bull. No. 8. Dec. 1908. 72 pp.)

Harding und Prucha geben die Resultate einer sorgfältigen quantitativen und qualitativen bakteriologischen Analyse von 10 Cheddarkäsen in verschiedenen Stadien der Reifung. Zur Isolierung wurden verschie-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

dene Medien benutzt, vorwiegend Fleischextrakt-, Pepton-, Molken-, Lakmus-Gelatine. Eine große Anzahl von Organismen wurde isoliert, nach Ausschaltung der Dubletten blieb eine verhältnismäßig kleine Zahl übrig, die jedoch in keiner Weise als besonders charakteristisch bezeichnet werden kann, wenn man die Häufigkeit ihres Vorkommens betrachtet. Es waren gefunden 16 Arten nur einmal, 9 Arten je zweimal, 4 Arten je dreimal, 5 Arten viermal 2 Arten fünfmal, eine Art siebenmal und eine Art 18 mal. Die letzten, fünfmal und häufiger gefundenen Arten, sind sämtlich Milchsäurebakterien, unterschieden durch Sauerstoffbedürfnis und Säurebildung in Rohrzucker. Einige in Molken sich längere Zeit vermehrende Arten verschwanden im Käse in kurzer Zeit.

Der Anzahl nach überwiegen die Milchsäurebakterien ebenfalls unbestritten; sie machen meistens über 99 Proz. der Gesamtzahl aus. Die absolute Zahl steht mit der Qualität in keinem sichtbaren Zusammenhang. Das Maximum der Gesamtzahl ist gewöhnlich nach 4 Tagen erreicht, darauf folgt eine schnelle Abnahme der Keimzahl. Ganz ähnliche Werte fand Russel.

Die Nicht-Milchsäurebakterien sind so selten und in so geringer Zahl gefunden worden, daß ihre Bedeutung für den Reifungsprozeß äußerst zweifelhaft ist. Ebenso wenig steht es jedoch fest, daß die Milchsäurebakterien allein die Reifung bewirken. Es ist nicht ausgeschlossen, daß andere Bakterien, die auf unsern Nährböden nicht wachsen, bei der Käsereifung eine bedeutende Rolle spielen. Otto Rahn (East Lansing, Mich.).

Burri, R. und **Thöni, J.**, Über Eigenschaften und Bedeutung der bei der Emmentalerkäsefabrikation gelegentlich auftretenden schleimbildenden Milchsäurebakterien. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. 1909. p. 227—314.)

Die Verff. gelangen in der vorliegenden, in der schweizerischen milchwirtschaftlichen und bakteriologischen Anstalt Bern-Liebefeld ausgeführten Untersuchung zu folgenden Schlußsätzen:

In neuerer Zeit treten in Emmentaler Käsereien anscheinend häufiger als früher Betriebsstörungen auf, deren unmittelbarer Grund in der klebrig-schleimigen Beschaffenheit liegt, welche die Molken des frischbereiteten, noch unter der Presse befindlichen Käses annehmen. Die ungünstige Wirkung dieser Erscheinung äußert sich bei jungen, noch unter der Presse befindlichen Käsen durch zu langsames Trocknen, bei älteren, handelsreifen Käsen durch eine wenig dauerhafte, rissige Beschaffenheit der Rinde, ferner durch unregelmäßige, oft nesterartige Lochung und mitunter durch scharfen Geschmack des Teiges.

Als eigentliche Ursache von Betriebsstörungen der genannten Art konnten mehrere Bakterienarten festgestellt werden, die sich (mit Bac. casei δ als Ausnahme) als echte, kräftige Milchsäurebakterien zu erkennen gaben, die aber mit der Fähigkeit ausgestattet waren, Milch und besonders frische Käsereimolken in kurzer Zeit in einen schleimig-fadenziehenden Zustand überzuführen.

Eine eingehende Vergleichung der gefundenen schleimbildenden Milchsäurebakterien mit den verschiedenen, in jedem normalen Käse anzutreffenden Milchsäurebakterienarten ergab keine wesentlichen Unterschiede. Vielmehr mußte man zum Schlusse kommen, daß sämtliche Arten der echten Milchsäurebakterien gelegentlich in schleimbildendem Zustand auftreten können.

Die schleimbildenden Kulturen zeichnen sich gegenüber den nichtschleimbildenden durch eine im allgemeinen etwas erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Hitze aus. Dieser Umstand und die Tatsache, daß die schleimbildenden Milchsäurebakterien im allgemeinen nicht weniger kräftige Säurebildner sind als ihre nichtschleimbildenden Stammesgenossen, sprechen dafür, daß wir es bei diesem Verschleimungsprozeß nicht mit einer Degenerationserscheinung im gewöhnlichen Sinne zu tun haben. Daß die schleimbildenden Milchsäurebakterien nicht etwa als selbständige Arten oder Rassen neben den nichtschleimbildenden stehen, wurde am Beispiel des Bac. casei ε bewiesen, dessen nichtschleimbildende, von einer einzigen Zelle stammende Reinkultur unter bestimmten Züchtungsbedingungen in eine schleimbildende Reinkultur übergeführt werden konnte.

Es wurden auch einige die Frage der Schleimbildung nicht berührende wichtige Feststellungen gemacht, nämlich:

a) In Übereinstimmung mit früheren Befunden konnte eine unverkennbare Verwandtschaft der gemeinen Milchsäurebakterien (Bact. Güntheri = Bact. lactis acidi Leichmann) mit pathogenen und nicht pathogenen Streptokokken festgestellt werden. Die Versuche führen dazu, in den Säurestreptokokken des Emmentalerkäses wie in den Mastitisstreptokokken nur besondere physiologisch ausgeprägte Anpassungstypen der gewöhnlichen Milchsäurebakterien zu erblicken, deren Umwandlung auch von morphologischen Veränderungen (Übergang der Einzel- und Doppelformen in die Kettenform) begleitet wird.

b) Bezüglich der für die Emmentalerkäse charakteristischen Milchsäurebakterien Bac. casei δ und Bac. casei ε, die einander in mancher Beziehung recht nahe stehen, konnte zu den schon von ihrem Entdecker E. v. Freudenreich hervorgehobenen Unterscheidungsmerkmalen als weiteres das Verhalten gegenüber Rohrzucker hinzugefügt werden, so daß eine Trennung der beiden Typen mehr als je gerechtfertigt erscheint.

Der Nachweis schleimbildender Milchsäurebakterien im Käsereibetrieb erfolgt am zweckmäßigsten, indem man während der Fabrikation aus dem Käsekessel Molken und Käsekörner in sterile Gärprobegläser füllt und diese sowohl bei 30° wie bei 38° C aufstellt. Nach 24 Stunden und oft noch deutlicher bei 36 Stunden macht sich das allfällige Vorhandensein von Schleimstoff beim Ausgießen der Gläser ohne weiteres bemerkbar. In angegebener Weise vorgenommene Erhebungen haben gezeigt, daß schleimbildende Milchsäurebakterien viel mehr verbreitet sind, als man von vorneherein annehmen könnte. Es gelingt unschwierig, den Beweis zu erbringen, daß anscheinend unter völlig normalen Verhältnissen arbeitende Käsereien die betreffenden Bakterien enthalten, und es geht schon daraus hervor, daß die Frage der Schädlichkeit dieser letzteren in erster Linie von ihrem mehr oder weniger massenhaftem Auftreten abhängig ist. Damit in Übereinstimmung befinden sich die Käsereiversuche, bei welchen absichtlich schleimbildende Bakterien der zu verkäsenden Milch zugefügt wurden. Im großen ganzen sind als Folge dieser Impfung bei den Käsen ähnliche Schäden zutage getreten, wie man sie in der Praxis beobachtet hat. Immerhin waren die künstlich erzeugten Fehler durchwegs weniger ausgesprochen und in einzelnen Fällen, besonders bei schwacher Impfung, war die Beimischung schleimbildender Bakterien zur Käsereimilch von keinen bemerkbaren Folgen begleitet.

Zur Bekämpfung der schleimbildenden Bakterien in Betriebsstörungsfällen kann als zuverlässigstes Mittel das Auskochen sämtlicher Käsereigeräte und eventuell der Milchtransportgefäße in Wasser, mit dem man den Käsekessel füllte, empfohlen werden. Falls das Lab der Sitz fadenziehender Bakterien war, erneuert man dieses mit Liebefelder Reinkulturen. Auch zum Zwecke der Vorbeugung gegen das Überhandnehmen der Schleimbildner im Betriebe haben sich die Reinkulturen als nützlich erwiesen.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Ludwig, F., Die Milbenfauna der Käse. Ein Beitrag zum zoologischen Unterricht. (Natur und Schule. Bd. 6. 1907. p. 170—178. m. 14 Abbild.)

Da in den zoologischen Schullehrbüchern meist nur von „der“ Käsemilbe (Tyroglyphus siro) die Rede ist, weist Verf. darauf hin, daß auf dem Käse bei uns nicht weniger als 5 Milbenarten: Tyroglyphus siro, Tyroglyphus longior, Aleurobius farinae, Carpoglyphus anonymus, Tarsonemus sp. verbreitet sind, die oft sogar nebeneinander auf demselben Käse leben. Am weitesten verbreitet und am häufigsten ist nach Michael in England Tyroglyphus longior als „die“ Käsemilbe an allen Käsesorten. Nach Berlese ist sie auch die häufigste Käsemilbe in Italien. Bei uns ist sie an Schweizerkäse und auch an anderen Käsesorten nicht selten; nur der Altenburger Milbenkäse scheint ganz überwiegend von Tyroglyphus siro bevölkert zu sein. Fumouze und Robin fanden an Septmoncelkäse Tyroglyphus siro und Tyroglyphus longior im Zahlverhältnis von 100 : 1, an Roquefortkäse im Verhältnis 100 : 8—9. In Frankreich ist Aleurobius farinae die häufigste Käsemilbe, danach kommt Tyroglyphus siro, am seltensten findet sich Tyroglyphus longior. In Brasilien wurde noch Tyroglyphus sironiformis Rob. auf Käse gefunden. Carpoglyphus anonymus findet sich auf deutschem Käse, Septmoncelkäse usw. häufiger; auf „Haferkäse“, Hartkäse usw. Tarsonemus sp. — Die einzelnen Arten werden abgebildet, ihre Entwicklung, sonstiges Vorkommen usw. des näheren besprochen.

Ludwig (Greiz).

Bouska, F. W., The use of starters in buttermaking. (Jowa Sta. Bull. 103. März 1909.)

Nach einer allgemeinen Einleitung über den Wert der Rahmreifung mit Reinkulturen erwähnt der Verf. ein Experiment über die Verwertung anderer Medien als Milch zur Züchtung von Säureweckern. Da viele Molkereien ausschließlich ziemlich alten Rahm geliefert bekommen, ist manchmal frische Magermilch nur für hohen Preis zu haben. Zuerst wurde verdünnte Milch versucht. Bei 40—60 Proz. Wasser wird nur halb soviel Säure gebildet als in unverwässerter Milch. Milchzucker- und Traubenzuckerzusatz haben keinen Einfluß auf die Säuremenge. Die Gegenwart von Kalk oder Kasein zur Neutralisierung der gebildeten Säure verursachen eine recht kräftige Säuerung, doppelkohlensaures Natrium wirkte schwächer, Dikaliumphosphat hatte gar keinen Einfluß.

Ein praktischer Rahmreifungsversuch mit einer Milchreinkultur und einer in Traubenzuckerlösung (91 Wasser, 4 Glukose, 5 Milch) ergab gleich gute Butter. Infolge der geringen Säurebildung der Traubenzuckerkultur war bei dieser eine längere Reifung notwendig.

Auch kondensierte Milch, mit oder ohne Rohrzucker, eignet sich nach der Verdünnung mit 3—4 Teilen gekochten Wassers recht gut als Nährboden für Rahmreifungskulturen.

Otto Rahn (East Lansing, Mich.).

Ellis, D., A preliminary notice of five new species of iron-bacteria. (Proceed. R. Soc. Edinburgh. Vol. 28. 1908. p. 338—342, w. 3 plat.)

Verf. hatte Gelegenheit, über hundert eisenhaltige Gewässer zu untersuchen. Er beschreibt in der vorliegenden Arbeit folgende fünf neue Bakterien:

Spirosoma ferrugineum, Nodofolium ferrugineum, Leptothrix Meyeri, Spirophyllum tenue, Spirosoma solenoide.

Das neue Spirosoma, die achte bis jetzt bekannt gewordene Art der Gattung, ist im Gebiet sehr verbreitet, in den Eisenwassern bei Kingswell in Ayrshire war sie der praedominierende Organismus. Nodofolium ist eine neue Gattung aus der Verwandtschaft von Leptothrix. Sie fand sich in Zentral- und Nordschottland. Leptothrix Meyeri ist nahe mit L. ochracea verwandt. Auch diese Art stammt aus Schottland. Spirophyllum tenue aus Alexandria, Renfrewshire, ist der zweite Vertreter der Gattung, aus welcher bisher nur Sp. ferrugineum bekannt war. Habituell sehr ähnlich ist Spirosoma solenoide aus West- und Mittelschottland.

Die fünf Arten sind abgebildet; die drei erstgenannten auch in photographischer Reproduktion; von diesen Arten soll eine genauere Beschreibung an anderer Stelle gegeben werden. Herter (Montevideo).

Heinemann, Lactic acid as an agent to reduce intestinal putrefaction. (Journ. of the Americ. med. Ass. Vol. 52. 1909. No. 5).

Nach den Untersuchungen des Verf. verhalten sich die nachstehenden Präparate, was den Gehalt an Mikrophyten und sonstige Eigenschaften anbelangt, folgendermaßen. — Lactobacilline (Franco- American Ferment Co., New York): B. bulgaricus, subtilis, Strept. lacticus, alkalibildender Stahpylococcus, Hefezellen. In gekochter gewöhnlicher Milch: hauptsächlich Strept. lacticus und Hefezellen, Bac. bulgaricus in verhältnismäßig geringen Mengen, 0,82—0,85 Proz. Säure (nach 3 Tagen), Geschmack und Aussehen in der Regel gut. Rohe unter Kontrolle stehende Milch lieferte verschiedene Fermentationsprodukte (von gutem Geschmack, — leicht bitter, — von unangenehmen Geschmack, aber nicht zu sauer, — zu sauer). Vorige Milch gekocht lieferte ebenfalls verschiedene Produkte (von gutem Geschmack, mit Beigeschmack nach gekochter Milch, — süß, — leicht sauer, dabei etwas süßlich, — wie angebrannt). Pasteurisierte Milch: Nicht angenehm, hauptsächlich Strept. lact. und Hefezellen. — Fermenlactyl (Anglo-American Pharmac. Co., Ltd., London, Paris, New York.) Bac. bulgaric., subtilis (?), Strept. lact., Hefezellen. In gekochter gewöhnlicher Milch: Strept. lact., Hefezellen in großen Mengen. In pasteurisierter gewöhnlicher Milch: Staphyloc., Bac. bulgaric. (nicht in großer Menge), Strept. lact. und Hefezellen, Azidität nach 3 Tagen 0,80—0,89 Proz. Gewöhnliche rohe Milch: Süß, rahmartig und dabei angenehm sauer. Unter Kontrolle stehende Milch: Geschmack und Aussehen im allgemeinen gut (ob roh oder gekocht geimpft). Dieselbe Milch pasteurisiert: Azidität nach 3 Tagen 0,48 Proz., Bac. bulgaric., Strept. lact. (in größter Menge), ein Staphyloc. und Hefezellen. — Kefilac (Kefilac Co., Atlanta, Ga.): Strept. lact., Bac. aërog., Alkalibildner (Bac. subtilis?), gelbes Pigment bildendes Bacterium, einige dem Bac. bulgaric. ähnliche Mikroben. Nach

3 Tagen 0,79—0,88 Säure. Die Fermentationsprodukte im allgemeinen von gutem Geschmack und Aussehen. In pasteurisierter Milch prädominieren strept. lact. und die Hefezellen. — Yoghurt (Yogurt Co., Battle Creek, Mich.): Strept. lact., Bac. subtilis, aërogenes, oidium lactis, nach 3 Tagen 0,64—0,90 Säure; das Fermentationsprodukt ist beträchtlich variabel, manchmal ganz gut, andersmal eher unangenehm (namentlich bei unter Kontrolle stehender Milch). — Lactone (Parke, Davis & Co., Detroit, Mich.): Strept. lact., gelegentlich ein Gasbildner (Bac. aërog.) und ein Gas nicht bildendes Stäbchen. Azidität nach 3 Tagen 0,69—0,92 Proz. (in pasteurisierter Milch nur 0,31 Proz.) Der Geschmack der fermentierten Milch im allgemeinen gut (außer der pasteurisierten, die bitter schmeckt). — Präparat „X“: Milchgerinnsel aus natürlich sauer gewordener Milch, durch 4 Tage bei Zimmertemperatur getrocknet. Geschmack und Aussehen der damit fermentierten Milch im allgemeinen gut, Azidität 0,80—0,91, in pasteurisierter Milch: Strep. lact. und Hefezellen. — Präparat „XX“: Gemisch von Strept. lact. und Lactobacillinehefe. Liefert eine ausgezeichnete Buttermilch. —

In gewöhnlicher Marktmilch wird das Maximum der Azidität bereits am 2. Tage erreicht, in unter Kontrolle stehender oder gekochter erst am 3. Tage. Sowohl bei der natürlichen als auch künstlichen Fermentation prädominiert der Strept. lact. Der Bac. bulgaricus verursacht infolge Fettspaltung einen unangenehmen Geschmack. Mit Ausnahme von Lactone enthalten alle Präparate Alkohol und aromatische Ester bildende Hefezellen. Das beste Ferment liefert der Strept. lact. mit einer aromabildenden Hefe.

Die Wirkung der Milchsäure resp. der Milchfermente auf dei Darmfäulnis ist noch problematisch. Die Berichte über Befunde des Bac. bulgaricus im Stuhle sind unvollständig, denn es fehlen Untersuchungen über das zahlenmäßige Verhältnis desselben zu den übrigen Darmbakterien. Auch ist es noch nicht definitiv bewiesen, daß die Milchsäurebildner Milchsäure im Darme produzieren. Bouček (Prag).

Hedin, Über Hemmung der Labwirkung. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 60. 1909. H. 5.)

Verf. berichtet bezüglich der Hemmung der Labwirkung weiter, zunächst über den Einfluß von Eierklar, der im wesentlichen mit dem des Serums übereinstimmt. Auch der Einfluß der Reihenfolge des Mischens ist der gleiche wie beim Serum und tritt um so deutlicher hervor, je geringer die angewandte Labmenge ist. Wird Milch und Hemmungskörper vor dem Zugeben mit Lab gemischt, so ist keine merkliche Hemmung, eher eine unbedeutende Beschleunigung zu beobachten. Werden dagegen Hemmungskörper und Lab zunächst vermischt, so ist die Hemmung deutlich.

Wie beim Serum steigt beim Eierklar die Hemmung mit der Zeit, doch ist hier nicht eine obere Grenze der Hemmung festzustellen. Der Einfluß der Temperatur ist sehr auffallend, in demselben Sinne wie beim Serum. Weiter zeigt das Eierklar wieder Ähnlichkeit mit dem Serum, indem es bei Behandlung mit verdünnter Salzsäure sein Hemmungsvermögen verliert. Ebenso kann das durch Eierklar gebundene Lab wieder durch Behandlung mit Salzsäure in Freiheit gesetzt werden.

Verf. geht dann auf seine Hemmungsversuche durch Kohle ein, vor denen er noch seine entsprechenden Untersuchungen über Hemmung der Trypsinwirkung durch Kohle kurz bespricht. Auch die Labwirkung wird durch Kohle in ausgesprochener Weise gehemmt, gleichfalls durch Talcum. Bei beiden zeigt sich deutlich der Einfluß der Reihenfolge des Mischens, ferner daß die Milch der Kohle bezw. dem Talcum das von diesen Stoffen gebundene Lab zum Teil zu entziehen vermag.

Als Unterschied zwischen der Wirkung von Eierklar und von Serum auf Lab ist hervorzuheben, daß bei Behandlung mit Säure in Gegenwart des Enzyms aus der Verbindung des Labs mit Eierklar alles Enzym wieder frei wird, während dieser Vorgang bei an Serum gebundenem Enzym nur teilweise eintritt.

Ob wie bei dem an Kohle und Talcum gebundenem Enzym auch bei dessen Vereinigung mit Eierklar oder Serum durch das Substrat ein Teil des gebundenen Enzyms den Adsorbentien wieder entzogen werden kann, ist, wegen der Unmöglichkeit, die beiden letzgenannten Stoffe aus dem Substrat zu entfernen, noch nicht entschieden. Ehrenberg (Breslau).

Hildebrand, Über Lab und seine Prüfung auf Stärke. (Landwirtschaftl. Umschau. Bd. 1. 1909. p. 654.)

Verf. gibt einen kurzen Überblick über die Eigenschaften des Labfermentes und die früher übliche Gewinnung desselben, geht dann auf die heutigen Labpräparate ein, und gibt eine Methode zur Prüfung ihrer Stärke. Es folgt dann eine Aufstellung der Anforderungen, welche an gute Labsorten zu stellen sind, bezüglich Farbe, Geruch, Haltbarkeit, mikroskopisches Bild und besonders Dauerhaftigkeit ihrer Wirkung. Ehrenberg (Breslau).

Fickendey, Zur Kakaofermentation. (Amtsblatt f. d. Schutzgebiet Kamerun. Jahrg. 1. 1980. No. 17.)

Verf. unterscheidet bei der Kakaoaufbereitung zwei verschiedene Prozesse, die Gärung der Pulpe, der zuckerhaltigen, schleimigen Masse, in welche die Bohnen in der Frucht eingebettet sind, einerseits, und zweitens die Vorgänge, welche in der Bohne selbst vor sich gehen, und im wesentlichen mit der Gärung nur in indirektem Zusammenhange stehen.

Der Zweck der Gärung ist in der Hauptsache der, die Kakaobohne abzutöten, ohne daß die Enzyme derselben vernichtet werden. Dies wird dadurch bewiesen, daß die wichtigsten Veränderungen, die sich nach der Fermentation in Gestalt von Braunfärbung der Nips und Milderung des bitteren Geschmacks zeigen, auch ohne jede Gärung zu erreichen sind, wenn man die Bohne unter Bedingungen tötet, welche die Wirkung der Enzyme nicht beeinträchtigen; so z. B. durch Alkohol, Gefrieren, Verreiben der Bohnen zu Brei.

Braunfärbung und Entbitterung des Kakaos stehen in ursächlichem Zusammenhang. Der bittere Geschmack ist auf die Anwesenheit von Gerbstoffen zurückzuführen, und die Braunfärbung hat ihren Grund in einer Oxydation dieser Gerbstoffe. Daß bei der Fermentation des Kakaos eine Oxydase eine Rolle spielt, läßt sich leicht beweisen. Wenn man Kakaobohnen in Wasser auf 75° erhitzt und dann zerreibt, so tritt keine Farbenänderung und Entbitterung des Breies ein, während nach einstündigem Erhitzen auf 70° noch Braunfärbung stattfindet. Die Bräunung der auf 75° erhitzten Bohnen läßt sich noch hervorrufen, wenn man in den Brei eine kleine Menge frischen wässerigen Kakaobohnenextraktes einrührt. Zum Vergleiche kann man eine andere Partie Bohnen mit solchem Extrakt versetzen, der vorher auf 80—100° erhitzt war, die Braunfärbung bleibt dann aus. Auch eine gereinigte Gerbstofflösung erfährt auf Zusatz nicht erhitzten Kakaobohnenextraktes Braunfärbung, die an der Oberfläche beginnt.

Verf. bringt dann noch auf Grund seiner Untersuchungen folgende Vorschläge für die praktische Kakaogärung:

1) Bei der Trocknung ist die Temperatur nicht über 60—70° zu steigern.

2) Die Kakaobohnen haben nach vollendeter Gärung eine etwa 5 bis 10 Proz. Pottaschelösung zu passieren, und werden erst dann getrocknet. Hierdurch soll eine Entsäuerung des Kakaos angebahnt werden, die dann wieder die Enzymweiterwirkung und damit die Entbitterung fördert. Auch wird so präparierter Kakao voraussichtlich eine größere Löslichkeit und Suspendierbarkeit zeigen. Ehrenberg (Breslau).

Neumann und **Knischewsky**, Studien über die Teiggärung. II. Die Hefevermehrung im Teig. (Zeitschr. f. d. ges. Getreidewesen. Bd. 1. 1909. No. 5.)

Verff. stellen die Vermehrung der Hefe in einem Teige dadurch fest, daß sie ihn in einer bestimmten Wassermenge vom Kleber trennen, dann mit Jodlösung versetzen und auffüllen, um dann in einem besonderen Zählapparat die Hefezellen auszuzählen, wobei von 400 Zählquadraten jedesmal 20 ausgezählt wurden. Die Ergebnisse sprechen nach Ansicht der Verff. für die Brauchbarkeit ihrer Methode, die Differenz in den Zählungen zweier verschiedener Teigstücke eines und desselben Teiges beträgt im Mittel 5,2 Proz. und erreicht im Höchstfalle 10,5 Proz. Es wurden der wechselnden, zugesetzten Hefemenge gut entsprechende Zahlen gefunden.

Die erhaltenen Ergebnisse lassen mit Sicherheit erkennen, daß bei Anwendung kleiner Hefemengen, wie sie z. B. auch im praktischen Bäckereibetrieb in Frage kommen, bisweilen schon nach 2 Stunden, immer aber nach 3 Stunden eine deutliche Vermehrung der Hefezellen festzustellen ist. Größere Hefemengen, die aber für die Praxis nicht in Betracht kommen, lassen eine Sprossung nicht zu, im Gegenteil fand bisweilen eine auffallende Verminderung der Zellenzahl statt. Während die im Bäckereibetrieb üblichen Zutaten von Salz und Zucker die Sprossung der Hefe nicht zu beeinflussen scheinen, konnte in allen Fällen ein günstiger Einfluß der Lüftung nachgewiesen werden. Diese kann erfolgen entweder durch ein wiederholtes Ausstoßen des Teiges, oder durch Bereitung eines kurzfristigen Vorteiges. Bei langdauernden Vorteigen ist die Hefevermehrung natürlich. Alle diese Versuche wurden nur mit kleinen Teigmengen durchgeführt, um ein genau quantitatives Arbeiten zu ermöglichen. Die Methodik der Versuche ist an und für sich so kompliziert und schwierig, daß bei großen Teigen der Betriebsbäckerei der quantitative Verfolg sehr unsicher wird. Einige orientierende Versuche der letzten Art haben denn auch bestätigt, daß konstante Resultate nicht erzielt werden konnten. Dagegen war es möglich, auch in den großen Teigen ausgesprochene Ergebnisse bei den Versuchen mit Vorteig zu erhalten.

Ehrenberg (Breslau).

Butkewitsch, Die Kultur des Schimmelpilzes Aspergillus niger, als Mittel zur Bodenuntersuchung. (Journal f. exper. Landw. Bd. 10. 1909. Heft 2. p. 136—141.)

Die Anwendung des Schimmelpilzes Aspergillus niger zur Lösung der oben bezeichneten Aufgabe läuft darauf hinaus, daß man in der Nährflüssigkeit irgend einen zur Entwicklung des Pilzes notwendigen Nährstoff, z. B. die Phosphorsäure, durch eine gewisse Menge des Bodens ersetzt, über den man sich unterrichten will, so daß dieser letztere dem Pilze als Quelle des betreffenden Nährstoffes dienen muß. Indem nun der Pilz diese Quelle ausnutzt, spiegelt er in seiner Entwicklung deren Zustand wieder, und nach dem Gang dieser Entwicklung läßt sich der Gehalt an dem fraglichen Nährstoff beurteilen.

Da nun die Untersuchungen von Koszelezky über die Grenzwerte der Entwicklung des Pilzes bei verschiedenen Mengen der im relativen Minimum befindlichen Phosphorsäure bezw. des Kali so regelmäßige Beziehungen zwischen den Mengen dieser Nährstoffe und den Grenzwerten für das Gewicht des Mycels ergeben haben, daß man die Möglichkeit erhält, die Kultur von Aspergillus niger zur quantitativen Bestimmung der beiden genannten Stoffe in Bodenauszügen zu benutzen, so ist man derart in der Lage, die analytischen Arbeiten zu vereinfachen, und statt einer, in der Regel nicht ausreichenden Untersuchung eine ganze Reihe von Feststellungen an verschiedenen Auszügen durchzuführen. (Vergleiche der Methode und ihrer Ergebnisse mit den Resultaten von entsprechenden Vegetationsversuchen scheinen, von anderen Bedenken abgesehen, zuerst erforderlich, um dem Vorschlage Beachtung zu sichern.) Ehrenberg (Breslau).

Simon, J., Neuere Ergebnisse bodenbakteriologischer Forschungen, ihr Wert für die landwirtschaftliche Praxis. (Vortrag, gehalten in der Ökon. Gesellsch. im Kgr. Sachsen, 13. Nov. 1908.)

Nach kurzer Besprechung des Stickstoffkreislaufs, der Bodengare, der verschiedenen im Acker verlaufenden Umsetzungen, sowie der zu deren Erkennung anwendbaren Methoden, wird speziell die Stickstoffbindung einer eingehenden Erörterung unterzogen. Bei Behandlung der frei im Boden lebenden Stickstoffsammler wird die weite Verbreitung von Azotobakter bestätigt, jedoch bemerkt, daß er in abnormen Böden mit ausgesprochenen Müdigkeitserscheinungen nicht aufgefunden werden konnte. In bezug auf die Erfolge der Knöllchenbakterienimpfung wird einiges über die größtenteils sehr günstigen Resultate berichtet, die bei Verwendung der von der pflanzenphysiologischen Versuchsstation in Dresden abgegebenen Kulturen erlangt wurden. Als geeignetstes Substrat zur Fortzüchtung fand Verf. hierbei mit Kalk, Gips u. a. versetzte Erde, worauf das Material auch nach dem Eintrocknen seine Impftüchtigkeit einige Zeit unvermindert bewahrt. Es scheint hiermit die Möglichkeit erreicht zu sein, ein wirksames, trockenes Impfmaterial zu bereiten. — Die Bodenmüdigkeitserscheinungen, sowie die Unverträglichkeit bestimmter Pflanzen wird in der Hauptsache auf die Einwirkung schädlicher Bodenbakterien und deren Ausscheidungsstoffe zurückgeführt. Bei Erörterung der CS_2-Wirkung wird erwähnt, daß nach Verf.s Erfahrungen ähnlich wie die Knöllchenbakterien auch Azotobakter nicht geschädigt wurde. Löhnis (Leipzig).

Fischer, Hugo, Der gegenwärtige Stand der Bodenbakteriologie. (Jahresber. VI. 1908. der Vereinigung für angewandte Botanik. Berlin 1909.)

Vortragender hebt hervor, daß bei bodenbakteriologischen Arbeiten botanische Untersuchungen den chemischen Untersuchungen gegenüber entschieden zu schlecht wegkommen. Die Chemie ist zwar zum Verständnis der bakteriologischen Umsetzungen unentbehrlich, doch ist es Aufgabe der Botanik durch Bestimmung der Bodenorganismen viele Verhältnisse aufzuhellen. Es werden nun die gewaltigen praktischen Schwierigkeiten besprochen, die sich dieser Aufgabe gegenüberstellen.

Hinsichtlich der Assimilation von Stickstoff scheint der im Boden vorhandene Stickstoff von den Organismen dem atmosphärischen vorgezogen zu werden. Durch hohen Kalkgehalt werden die Stickstoffbakterien im Boden gefördert, aber auch der Stickstoffverbrauch im Boden befördert; ungelöst ist noch die Frage, wo die Zuträglichkeit der Bodenverhältnisse aufhört und die Schädlichkeit anfängt. — Noch nicht befriedigend gelöst ist die Frage, wie man in wirksamer und praktisch durchführbarer Weise die Tätigkeit der Ammoniakbakterien verhindern kann. Gänzlich ungelöste Rätsel geben auch die Nitrifikation im Stallmist und im Torf auf, es ist unwahrscheinlich, daß in diesen Substraten die selben Organismen tätig sein sollen, die wir bisher als Salpeterbildner kennen. Die Frage der Stickstoffestlegung ist in ihrer praktischen Bedeutung auch noch lange nicht geklärt, sicher ist sie nutzbringender als die bei durchlässigem Boden zu befürchtende Auswaschung der Nitrate in den Untergrund. Ziemlich unbekannt sind uns auch die Mikroorganismen, welche die Humusstoffe bilden und weiter zersetzen.

Das einzige recht gut erforschte Kapitel sind die Knöllchenbakterien. Redner unterzieht hierauf die Unzulänglichkeit der Arbeitsmethoden einer kritischen Prüfung. Eine allen Anforderungen gerecht werdende Methode der bakteriologischen Bodenuntersuchung gibt es zur Zeit nicht. Vor allem wichtig ist die Erforschung der Wirkungen der sich gegenseitig verjüngenden oder bekämpfenden Bakterienarten untereinander. Praktisch würde durch den Nachweis gewisser „Leitbakterien“ (für Kalk scheinbar Azotobakter chroococcum) gewonnen.

Vortragender fordert, daß die Bodenbakteriologie als selbständiger Forschungszweig anerkannt werde.

An den Vortrag schließt sich eine kurze Diskussion, die nichts Neues bringt. Marshall (Halle a. S.).

Ehrenberg, Paul, Theoretische Betrachtungen über die Beeinflussung einiger der sog. physikalischen Bodeneigenschaften. (Mitteil. d. landwirtsch. Instit. d. Kgl. Universität Breslau.) Bd. 4. Heft 3. Berlin (P. Parey) 1908.

Zweck der Schrift ist, die Ergebnisse der sog. Kolloidchemie ins Gebiet der Bodenkunde einzuführen. Unter Kolloiden versteht man Substanzen, die im Wasser entweder so fein verteilt sein können, daß die einzelnen Partikel mit unbewaffnetem Auge nicht mehr zu erkennen sind (sog. Suspensionen) oder deren Verteilung in einer Flüssigkeit eine so feine und gleichmäßige ist, daß man sie früher für eine echte Lösung gehalten hat, bevor das Ultramikroskop entdeckt war. — Verf. erläutert nun zuerst die wichtigsten Begriffe und Gesetze der Kolloidchemie; daran schließt er eine Einteilung der diversen Kolloide des Ackerbodens. Im speziellen Teile befaßt er sich mit der Bedeutung dieser Substanzen für die Gestaltung der sog. physikalischen Eigenschaften der Kulturböden, wobei er nach folgenden Punkten vorgeht:

A. Einrichtungen physikalischer Art:

a) **Frostwirkung,**
b) **Wirkung von Wärme und Trockenheit,**
c) **Wirkung des Regens.**

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

B. Chemische Einwirkungen:
- a) Direkte Salzwirkung,
- b) Kalkwirkung.

C. Mischwirkungen:
- a) Biologisch-physikalisch-chemisch durch Brache, Stalldünger, Gründünger, Hackfrüchte,
- b) Biologisch-chemische durch physiologische Salzwirkung,
- c) Biologisch-physikalische durch austrocknende Wirkung der Pflanzen.

Vieles neue und interessante erfährt man über die Erscheinungen, die mit der Bodenfruchtbarkeit in innigstem Zusammenhange stehen. Das Gebiet muß gründlich durchgearbeitet werden; der Anfang ist gemacht. Matouschek (Wien).

Grazia, S. de, Influenza dell'umidita del suolo sul'azione concimante della calciocianamide. (Staz. sperim. agrarie. vol. XLI. 1908. p. 115—126.) —

Kalkstickstoff ist für die Ernährung und das Wachstum des Roggens nützlicher als Stickstoffkalk und zwar namentlich dann, je feuchter der Boden ist und je früher die Aussaat stattfand. Bei Tonböden wurden die besten Resultate erzielt, weniger gute bei Kalk, die schlechtesten bei Sandböden. Dicyandiamid hatte keine Wirkung, da die Bodenfeuchtigkeit auf dasselbe keinen Einfluß hat. Matouschek (Wien).

Lemmermann und **Fischer,** Untersuchungen über die Zersetzung der Kohlenstoffverbindungen verschiedener Gründüngungspflanzen. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. 38, Ergänzungsband V. 1909. p. 113.)

Die Verff. stellen fest, daß bei ihren Untersuchungen über die Kohlensäureabgabe sich in lehmigem Sandboden zersetzender Gründüngungsmasse verschiedener Pflanzenarten Unterschiede nicht zu ermitteln waren. Doch sollen die Versuche fortgesetzt werden, die bislang einen Zeitraum von 28 Tagen umfassen. Ehrenberg (Breslau).

Lemmermann und **Tazenko,** Untersuchungen über die Umsetzung des Stickstoffs verschiedener Gründüngungspflanzen im Boden. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. 38. Ergänzungsband V. 1909. p. 101.)

Die Verff. führten Versuche mit einem lehmigen Sandboden aus, dem frische Pflanzenmasse von Serradella, Bohnen, Wicken, Lupinen oder Raps zugemengt wurde. Nach längerer Aufbewahrung bei verschiedenen Temperaturen von 14—28° fand eine Untersuchung über die Verluste an Stickstoff wie über die löslich gewordenen Stickstoffmengen statt, welche folgende Ergebnisse brachte:

Die übrigens nicht großen Verluste an Stickstoff, welche beobachtet werden konnten, sind nach Meinung der Verff. zum Teil mit einiger Wahrscheinlichkeit auf ein Entweichen von Ammoniakstickstoff zurückzuführen. Solche Verluste sind in allen Fällen eingetreten, waren bei den mit Serradella und Raps versehenen Böden nicht größer, als bei von Gründüngung frei gebliebenem, stiegen dagegen bei allen anderen Arten von Gründüngung auf etwa doppelte Höhe.

Von Wicken- und Serradellagründüngung wurden erheblich größere Stick-

Digitized by Google · Original from UNIVERSITY OF IOWA

stoffmengen löslich, als von den anderen Pflanzen. Die Verff. stellen hierzu fest, daß der Gehalt der Gründüngungspflanzen an Rohfaser im umgekehrten Verhältnis zur Löslichkeit des Stickstoffs steht, und schreiben ihm in dieser Richtung maßgebenden Einfluß zu.

Der Zusatz von Superphosphat, Stroh, Stroh mit Superphosphat, und kohlensaurem Kalk hat einen Einfluß auf die Stickstoffverluste nicht aufweisen können. Dagegen hat nach den angegebenen Zahlen ein Strohzusatz die Bildung von wasserlöslichem Stickstoff beeinträchtigt. was auf die Energiezufuhr zurückzuführen ist, welche durch das Stroh den eiweißbildenden Organismen wurde.

Mit den bei den Versuchen gewonnenen, mit Gründüngung versehenen Erdmassen wurden dann Vegetationsversuche angestellt, die aber, wie Verff. hervorheben, infolge besonderer Verhältnisse keine maßgebenden Ergebnisse brachten. Die Unterschiede bei verschiedenen zur Düngung herangezogenen Pflanzenarten sind in Anbetracht der Unterschiede der Parallelgefäße bedeutungslos. Ehrenberg (Breslau).

Pohl-Rohrbeck, H., Wie ist der Ausfall von Stallmist bei Mißernten zu ersetzen? (Illustr. Landwirtsch. Zeitung. 1909. No. 50.)

Nach Verf. muß ein Ersatz auf dreierlei Art angestrebt werden. 1) Durch einen Ersatz des Streumaterials. 2) Durch Gründüngung. 3) Durch künstliche Düngemittel.

Ersatz des Streumaterials ist geboten, wenn man trotz einer Mißernte seinen Viehstand nicht verringern will. Stroh anzukaufen wäre zu kostspielig. Verwendung von Torfstreu wäre schon günstiger und es würde auch der wertvolle Harn besser festgehalten. Am besten ist man daran, wenn man auf eignem Gebiete zum Streutorf geeignetes Material besitzt, wie dies gerade zwischen den geringwertigsten Böden des Ostens vielfach der Fall ist. Er muß im Sommer gestochen und getrocknet und zum Streuen entsprechend zerrissen und getrocknet werden.

Bei einem Ersatz durch Gründüngung möchte Verf. besonders die blauen Lupine berücksichtigt wissen. Die Lupine muß aber mindestens sofort nach der Frühjahrsbestellung gesät werden, damit eine möglichst große Gründüngungsmasse erzielt und auch rechtzeitig untergepflügt wird. So hat der Boden Zeit sich zu setzen, was die Walze allein nicht zu Stande bringt. Für die trocknen Höhenböden des Ostens kommt als Gründüngungspflanze noch der Senf in Betracht, dessen Hauptvorteile in der verhältnismäßig billigen Saat und seiner Schnellwüchsigkeit bestehen. Für derartige Böden ist der Senf schon wegen seiner physikalischen Wirkung auf dieselben von Nutzen, da er durch Beschattung die Bodengare fördert, mit seiner Gründüngungsmasse Humus anreichernd wirkt und den bindigen Tonboden direkt lockert.

Bei dem Ersatz des Stallmistes durch künstliche Düngemittel, kommt es auf den Zustand des betreffenden Bodens an. Je geringer der Kulturzustand des Bodens, um so unsicherer ist die Ausnutzung der künstlichen Düngestoffe. Ausgenommen sind hiervon feuchte Moorböden und kulturfähige Sandböden.

Stickstoffersatz ist nach Verf. auf den Höhenböden des Ostens unbedingt nötig, da dieselben auch bei voller Stallmistdüngung Stickstoffhunger zeigen. Andrerseits verfügen diese Böden wohl über reichlichere Reserven an natürlichen, mineralischen Pflanzennährstoffen, da sie noch nicht so ausgebaut sind. Daher könnte man sich in diesen Fällen wohl mit einer bloßen Stickstoffzufuhr begnügen. Moorboden wiederum ist reich an Stickstoff, bedarf aber der Gabe von Phosphorsäure und Kali. Es ist daher abzuraten, auch Stallmist auf Moorböden zu fahren, zumal dieser auf solchen Böden oft physikalisch schädigend wirkt.

Stickstoff ohne mineralische Nährstoffgabe würde in Form von Chilisalpeter zu geben sein. Auf wenig kultivierten Böden würde er allerdings oft unwirksam sein. Auf geeigneten Böden ist für Roggen eine Gabe von 30—40 Pfund pro Morgen zu empfehlen, wenn im Frühjahre eine lebhaftere Vegetation der Pflanze begonnen hat. Zweckmäßig ist Eineggen, wegen der besseren Ausnutzung des Stickstoffes und Aufschließens der Ackerkrume. Bei Krustenbildung ist die Walze, oft mit nachfolgendem Eggen, zu verwenden. — Zu Weizen sind 40—60 Pfund Chili ratsam, am besten in zwei Portionen. Die erste wie beim Roggen, die zweite solange als man noch mit der Egge auf das Feld kann. — Durch solche Gaben kann natürlich der Stallmiststickstoff nicht völlig ersetzt werden, da mit 30—40 Pfund Chili 5—6 Pfund, mit 80 Zentner gutem Stallmist aber 30—35 Pfund Stickstoff auf den Acker gebracht werden. Sollen nun auch Kali und Phosphorsäure außer Stickstoff zugeführt werden, so entsteht die Frage, ob man die mineralischen Nährstoffe für sich als entsprechendes Phosphat oder Kalisalz verwendet, oder ob man ein Düngemittel wählt, welches alle drei Nährstoffe enthält. Nach Verf. ist hierbei nicht der Preis, sondern das physikalische Verhalten der Düngemittel ausschlaggebend. Ist z. B. zu Wintergetreide Stickstoff- und Phosphorsäuregabe geplant, so ist es bei einem Boden, der für künstliche Düngemittel geringe Sicherheit bietet, besser, diese schon im Herbst in einem gemeinsamen Düngemittel zu geben. Die Ausnutzung des Stickstoffs wird dadurch gesicherter, auch braucht solcher Boden den Stickstoff schon im Herbst, um mit gutbestockter Saat in den Winter zu kommen. Auf Moorböden hat Verf., von Verwendung des teuren Kalis abgesehen, nur reines Thomasmehl gegeben, was nicht gedüngten Kontrollstreifen gegenüber, namentlich beim Roggen, augenscheinlichen Erfolg brachte. Verf. schließt daraus, daß eine Pflanze, wenn sie nur hinlänglich Stickstoff und Phosphorsäure erhält, sich mit minimalen Mengen Kali begnügt.

Marshall (Halle a. S.).

Klebahn, Düngungsversuche mit Phosphaten. (Jahresber. 6. 1908, der Vereinig. f. angew. Botanik. Berlin 1909.)

Es handelt sich um Versuche, die zur Gewinnung eines Gutachtens nötig waren. Sie demonstrierten sehr schön, daß Phosphate zu den unentbehrlichen Pflanzennährstoffen gehören, und daß man auf nährstoffarmen und nährstofffreien Böden durch Kunstdünger allein zu guten Ernten kommen kann. — Auf Moorboden brachten Thomasmehl und Agrikulturphosphat die besten Ernten. Auf Sandboden wirkte Thomasmehl geringer und Agrikulturphosphat gar nicht. Die Säureausscheidung aus den Wurzeln genügt demnach nicht, um die zur Ernährung nötigen Phosphatmengen aus diesen Substanzen zu lösen, die sauren Eigenschaften des Moorbodens spielen bei der Phosphataufschließung eine wesentliche Rolle. Freie Phosphorsäure erwies sich auf Moorböden als schädlich, auf Sandboden erzielte sie dagegen teilweise die besten Ernten. Superphosphat mit und ohne Kalk wirkte auf Hafer erheblich besser als auf Gerste. Hinsichtlich seiner Wirkung zeigen Moor- und Sandboden keinen klaren Unterschied. Bis hierher handelt es sich um Topfversuche. Bei Feldversuchen gab für Wiesenland Thomasmehl die beste

Wirkung, nächst diesem Superphosphat, am wenigsten Agrikulturphosphat. Auf einem Haferfeld wirkten Thomasmehl und Agrikulturphosphat ziemlich gleichwertig, Superphosphat weniger günstig. Marshall (Halle a. S.).

Paris, G., e **Marsiglia, T.**, La riduzione dei nitrati nella fermentazione alcoolica. (Stazioni sperim. agrarie. Vol. 41. 1908. p. 223—230.)

Bei der Gärung von Weinmost ebenso wie von Zuckerlösungen unter Zusatz von Nitraten und Reinhefen beobachteten Verff. eine ständige Nitratreduktion unter Ausweichung von gasförmigen Stickstoffoxyden. Diese Reduktion kann aber ebenso partiell wie total sein, wodurch die Hinfälligkeit der Nitratreaktion als Kriterium der Weinverdünnung nachgewiesen wird.

E. Pantanelli (Rom).

Straňák, Fr., Zur Assimilation des Luftstickstoffes durch im Boden freilebende Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Zuckerind. in Böhmen. Jahrg. 33. 1909. p. 599.)

Beijerinck hat seinerzeit aus holländischen Böden in einer Mannitlösung eine Bakterienform gezüchtet, welche sich bei Abwesenheit stickstoffhaltiger Substanzen in der Nährlösung durch eine ungewöhnlich große Entwicklung auszeichnete und eine starke Luftstickstoffassimilation zeigte. Beijerinck nannte dieses Mikrob, von welchem er 2 Spezies unterschied, und das gegen das anaërobe Clostridium aërob war, Azotobacter. Da die Frage des Azotobacter ein Stickstoffproblem war, so hat sich eine Reihe von Forschern mit diesem Mikrob beschäftigt, und es sind daher in der Folge verschiedene Arbeiten erschienen, die nicht nur für die Wissenschaft, sondern auch für die praktische Landwirtschaft von großem Wert waren. Verf. hat sich ebenfalls mit Azotobacter beschäftigt, und betreffen seine Beobachtungen die aus böhmischen Böden isolierte Art Azotobacter chroococcum. Zuerst werden die Isolierung und Kultivierung des Azotobakters näher beschrieben und auf sein mikroskopisches Aussehen hingewiesen. Die Anschauung Beijerincks und van Deldens, daß Azotobacter ausschließlich in Symbiose mit bestimmten Arten von Mikroben (Granulobacter sphericum, Aërobacter aërogenes, Bacillus radiobacter) die Fähigkeit zur Stickstoffassimilation besitzt, wurde später durch verschiedene Forscher, darunter auch von Stoklasa widerlegt, und gibt Verf. aus dem chemisch-physiologischen Abschnitt der Stoklasa'schen Arbeit[1]) diejenigen Daten wieder, welche sich 1) auf die Stickstoffgewinnung durch Rein- und Rohkulturen von Azotobacter chroococcum, 2) auf die Stickstoffgewinnung mittels Reinkulturen von Azotobacter in Nährmedien, die verschiedene Kohlenhydrate enthalten, 3) auf die anaërobe Atmung des Azotobacter bei einer Temperatur von 20° C, 4) auf die aërobe Atmung des Azotobacter bei einer Temperatur von 20° C, 5) auf die Wirkung der Synergie zwischen Azotobater und Bac. radiobacter in Nitratlösungen, 6) auf den Konsum der Kohlenhydrate bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Azotobacter und schließlich 7) auf die chemischen Vorgänge beim Abbau von Glukose und Mannit durch die Atmungsenzyme des Azotobacter beziehen.

---

[1]) „Beitrag zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffes durch Azotobacter und Radiobacter". (Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Abteilung II. Band 21. 1908. No. 15/16 und 20/21.)

Zum Schluß teilt Verf. die Ergebnisse der seitens der Versuchsstation für Zuckerindustrie in Prag durchgeführten Versuche der Bodenimpfung mit Azotobacter mit. Diese Versuche wurden teils im Jahre 1906 auf den Feldstücken einer Torfwirtschaft, teils im Jahre 1908 in Vegetationsgefäßen im Glashaus vorgenommen. Bei ersteren Versuchen wurden mit Kulturen des Azotobacter Parzellen geimpft, die mit Futterrüben, Hafer und Kartoffeln bebaut wurden. Die gleichen Pflanzen standen auch auf ungeimpften Parzellen. Auf den geimpften Böden wurden bei der Futterrübe um 10 Proz. mehr Knollen und um 35 Proz. mehr Kraut, bei dem Hafer um 13 Proz. mehr Samen und um 16 Proz. mehr Stroh und bei den Kartoffeln um 31 Proz. mehr Knollen als auf den ungeimpften Böden geerntet. Beim zweiten Versuche wurde festgestellt, daß gute Ergebnisse, also eine erheblichere Fruchtbarkeit des Bodens, nicht durch eine direkte Bodenimpfung mit Reinkulturen, sondern teils durch eine allmählich durchgeführte Übertragung der Kultur aus dem Entwicklungsmedium (Mannitnährlösung) in ein dem Nährboden näheres Medium und aus diesem erst in die Ackerkrume, teils durch eine Impfung von Rohkulturen erzielt werden. Die Impfungsmethode ist die folgende: Mit einer Reinkultur oder Rohkultur des Azotobacter wird zuerst Boden, der 5 Proz. Glukose enthält, geimpft (in 5 kg Boden, welchem 250 g Glukose zugegeben wurden, wurden 500 ccm Glukosenährlösung mit entwickelten Azotobacter-Kulturen gegossen); hierauf wird der Boden über 3 Monate in der biologischen Kammer bei 24° C. belassen. Durch diesen Vorgang gelangt das Mikrob zwar in ein anderes Medium als das, in welchem es sich bis jetzt entwickelt hat und in welchem für dasselbe die günstigsten Existenzbedingungen bestanden haben, doch werden ihm aber doch einige biologische Faktoren (Kohlenhydrate, Temperatur) belassen. Es entwickelt und verbreitet sich sehr stark und akkomodiert sich wahrscheinlich den verschiedenen chemischen und biologischen Bedingungen, die im Boden in der Natur existieren, so daß es nach diesem Gewöhnen an die natürlichen Bedingungen leichter die Veränderung des Mediums nach der schließlichen Überimpfung in die Ackerkrume vertragen konnte. Durch besondere Versuche wurde festgestellt, daß die Assimilationsfähigkeit des Azotobacter, die schon durch zahlreiche physiologische Laboratoriumversuche nachgewiesen wurde, auch für die Praxis von Wichtigkeit ist. Zur Erkennung und Modifikation der für eine künstliche Entwicklung des Azotobacter im Boden günstigen Bedingungen sind freilich nicht nur weitere physiologische Studien in bakteriologischen Laboratorien notwendig, sondern auf Grund derselben auch biologische Versuche auf Versuchsfeldern, wo hauptsächlich durch eine richtige Modifikation der chemischen Bodenzusammensetzung ermöglicht wird, zu Ergebnissen zu gelangen, die zu dem wünschenswerten Ziel, d. i. zu der Benutzung der Stickstoffimilation der Mikroben in der praktischen Landwirtschaft, führen würden. Stift (Wien).

Apelt, Über stickstoffassimilierende Mikroorganismen. (Zeitsch. f. Naturwissensch. Bd. 80. 1908. p. 300 uff.) —

Geschichtlicher Überblick über das Thema. Würdigung der Verdienste von Julius Kühn, Krieger, Henry, Berthelot, Winogradsky, Beijerinck. Matouschek (Wien).

Scherpe, Über den Einfluß des Schwefelkohlenstoffs auf die Stickstoffumsetzungsvorgänge im Boden. (Arb. a. d. K. Biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. 7. 1909. Heft 3).

In einem einleitenden Kapitel geht Verf. zunächst auf die zwei herrschenden Theorien der Schwefelkohlenstoffwirkung, 1) die ältere Reizwirkungstheorie und 2) die Theorie von der indirekten Bakterienwirkung, ein und bespricht die technischen Schwierigkeiten, die ihre Prüfung bietet. Versuche haben die Giltigkeit der zweiten Theorie sehr wahrscheinlich gemacht, doch ist die Wahrscheinlichkeit noch nicht so groß, daß sich die ältere Theorie von der Hand weisen läßt. Daß in mit Schwefelkohlenstoff behandeltem Boden der assimilierbare Stickstoff reichlicher als in unbehandeltem Boden auftritt, ist ein wertvoller Nachweis. Zweck vorliegender Arbeit ist nun, sicher festzustellen, ob unter günstigen wie ungünstigen Verhältnissen der Stickstoffernährung die durch Schwefelkohlenstoffbehandlung erzielten Mehrerträge der Anreicherung an assimilierbarem Stickstoff die Wage halten. Es werden möglichst verschiedene Bodenarten, auch unter Berücksichtigung von die chemischen Vorgänge im Boden wahrscheinlich beeinflussenden Zumischungen fremder Stoffe zum Versuch herangezogen. Besonders geeignet von solchen Zumischungen scheint das Ledermehl, von dessen Stickstoffgehalt gewöhnlich nur ca. 15 Proz. ausgenutzt werden, von dem sich daher durch Schwefelkohlenstoffbehandlung eine stärkere Düngerwirkung erwarten ließ. Die Kulturversuche wurden in mit schwarzem Papier umkleideten Glaszylindern ausgeführt, die etwa 8 kg Dahlemer Erde faßten, und unten mit 2 Luftzuführungsöffnungen versehen waren. Die Töpfe wurden in der üblichen Weise beschickt, als Saatgut diente Johannistags-Sommerroggen. Verf. geht nun zur Aufschließung des Bodens durch Schwefelkohlenstoff über und beginnt mit den an der Dahlemer Ackerkrume angestellten Versuchen. Der Boden ist ein sandiger Lehmboden mit geringem Humus- und sehr geringem Stickstoffgehalt. Die Gefäßversuche wurden mit 3 unbehandelten und 3 behandelten Gefäßen vorgenommen, deren jedes durch 6 Löcher je 20 ccm Schwefelkohlenstoff erhalten hatte. Der Versuch begann am 10. X. 07, bis zum 6. XI. wurden alle Gefäße kühl gehalten, dann bei 17—18°. Die Untersuchungsproben wurden der Mitte der Bodenmasse entnommen. Es folgt eine Tabelle mit den Resultaten der zu verschiedenen Zeiten vorgenommenen Stickstoffbestimmungen, sowie der an den Extrakten mit schwefelsaurem Kalium gemachten Bemerkungen. Am 29. I. 08 zeigten sich von den unbehandelten Böden einer geruchlos, zwei mit mäßig starkem Erdgeruch, von den 3 behandelten Töpfen roch a ziemlich schwach, b ziemlich stark, aber nicht nach Erde, sondern etwas mulstrig, c ebenfalls. Bei einer weiteren Revision am 27. III. 08 zeigten alle Töpfe tierische Exkremente, wahrscheinlich von Regenwürmern, irgend welches charakteristische Verhalten wurde nicht beobachtet. Hierauf folgt eine nach anderen Gesichtspunkten geordnete Tabelle der Stickstoffwerte. Aus dieser geht hervor, daß die Stickstoffumsetzungen mit einer Verminderung des löslichen Stickstoffs beginnen, die in erster Linie das Nitrat zu betreffen scheint. Dies scheint aber eine allgemein auftretende Folgeerscheinung bei der Überführung von Ackerboden in Gefäße zu sein. Beim Schwefelkohlenstoffboden sind die Abnahmen nur gering und hierauf steigen die Aufschließungskurven an und zwar beim behandelten Boden besonders stark, dessen Aufschließungskurve länger als 3 Monate oberhalb der des unbehandelten Bodens verläuft. Nach dieser Zeit nähert sich infolge stark eintretender Nitrifikation die Kurve der unbehandelten Gefäße der der Schwefelkohlenstoffgefäße und schneidet sie endlich. Nach 5 Monaten befanden sich im unbehandelten Boden größere Mengen aufgeschlossener Stickstoffverbindungen als im Schwefelkohlenstoffboden. Ein weiterer kleinerer Versuch von kürzerer Dauer, der nur mit behandeltem Boden angestellt wurde, läßt den Niedergang an löslichem Stickstoff vermissen. — Der wichtigste der Feldversuche wurde im Herbst 1907 auf einem Felde angestellt, das seit 1904 keinen Stallmist erhalten, aber alljährlich in Kultur (seit 1904 Kartoffeln) gestanden hatte. Der Boden zeigte die gewünschte gleichmäßige Beschaffenheit, vereinzelte Reste von Stalldünger waren in ein kohleartiges Pulver umgewandelt, das bei der Probenahme leicht vermieden werden konnte. Das Feld wurde durch einen 30 cm tiefen Graben in 2 gleich große Stücke geteilt und das eine am 17. X. 07 mit Schwefelkohlenstoff behandelt (pro qm 500 ccm durch 4 20 cm tiefe Löcher, die nach dem Einfüllen von Schwefelkohlenstoff sofort mit Boden unter Nachgießen von Wasser dicht verschlossen wurden.)

Bei diesem Versuch vollzog sich der Aufschließungsvorgang anscheinend erheblich langsamer, als bei einem weiteren im Frühjahr auf demselben Feldstück vorgenommenen Versuch, bei dem übrigens nur 400 ccm Schwefelkohlenstoff pro qm zur Verwendung kamen. Bei diesem Versuch wurde schon nach 14 Tagen der gleiche Gehalt an Aufschließungsprodukten festgestellt, der im ersten Versuche erst nach 5 Wochen vorhanden war. Es lassen alle diese Gefäß- und Feldversuche die vermehrte Ammoniakbildung im Schwefelkohlenstoffboden aufs deutlichste erkennen, dieser Vorgang nimmt beim Topfversuch im wesentlichen den gleichen Verlauf wie beim Feldversuch. In beiden Fällen wurde die Wirkung des Schwefelkohlenstoffs auf die Stickstoffumsetzungsvorgänge am 8. Versuchstage bemerkbar. Die Ammoniakbildung im unbehandelten Boden ruht dagegen lange Zeit gänzlich, offenbar durch den Einfluß der niedrigen Wintertemperatur. Jedoch wurde der Ammoniakgehalt beim Freilandversuch, wie bei dem unter viel günstigeren Temperaturbedingungen stehenden Gefäßversuch, übereinstimmend gefunden. Dies erklärt sich daraus, daß beim Topfversuch die nitrifizierenden Bakterien in Tätigkeit geblieben sind, und das über den gefundenen Gehalt erzeugte Ammoniak verarbeitet haben. Die merkwürdige Konstanz des Ammoniakgehaltes des unter den verschiedensten Bedingungen stehenden Dahlemer Bodens weist auf das Bestehen eines Gleichgewichtszustandes zwischen Ammoniakbildung und Aufzehrung hin (Störmer). Dieser Zustand bedeutet aber, daß unter den vorliegenden Verhältnissen Nitrifikation und Ammoniakerzeugung mit gleicher Geschwindigkeit vor sich gehen und daß Einflüsse, die den ersten Vergang herabsetzen, den zweiten aber beschleunigen, in einer Zunahme des Ammoniakgehaltes zum Ausdruck kommen müssen. Ein solcher Vorgang greift im Schwefelkohlenstoffboden Platz, während der entgegengesetzte Vorgang, die Verzögerung der Ammoniakbildung, auch die Nitrifikation in Mitleidenschaft zieht. So ermöglicht sich, daß bei schwacher wie bei lebhafter Nitrifikation der Ammoniakgehalt konstant bleiben kann und auch durch Temperaturveränderungen nicht beeinflußt wird. Durch die Schwefelkohlenstoffbehandlung wird selbst bei dem Freilandversuch ein Ammoniakgehalt erzielt, der den Gehalt des nicht behandelten Bodens um das 2—3-fache übertrifft. Da beim Freilandversuch das Nitrat vernachlässigt werden kann, so gibt der Ammoniakbefund ziemlich genau die löslich gewordene Stickstoffmenge an, es handelt sich hier um beträchtliche Stickstoffmengen, die bedeutende Ertragssteigerungen bei der Ernte liefern müssen. Die Aufschließungsvorgänge nehmen beim Gefäß- wie beim Freilandversuch während des größten Teils der Versuchsdauer den gleichen Verlauf, doch zeigt sich zuletzt der unbehandelte Boden beim Gefäßversuch stärker aufgeschlossen und zwar ist der größte Teil des löslichen

Stickstoffs als Nitrat vorhanden, die Nitrifikation wird also beim unbehandelten Boden durch lockere Lagerung und höhere Temperatur begünstigt. Der schließliche Vorsprung, den hier der unbehandelte Boden bei der Bildung löslicher Stickstoffverbindungen erlangt hat, ließe sich auch durch Assimilation von atmosphärischem Stickstoff erklären. Es wird auch die hier hauptsächlich in Betracht kommende Bakterie, der Azotobakter, durch Schwefelkohlenstoff stark geschädigt. Indessen ließen die Analysenbefunde darauf schließen, daß im Schwefelkohlenstoffboden, sowie im unbehandelten Boden der Gefäßversuche die mikrobiologischen Vorgänge, soweit sie den Stickstoffgehalt beeinflussen, die gleichen sind. Bei diesen Gefäßversuchen mußte nun, um die Theorie zu rechtfertigen, der Boden, der am reichsten an löslichen Stickstoffverbindungen war, in diesem Falle also der unbehandelte, bei Kulturversuchen auch den höchsten Ertrag liefern. Die Ausnutzung des Bodenstickstoffs bei denselben betrug etwa 4,5 Proz. Der Schwefelkohlenstoffboden lieferte mehr Pflanzensubstanz, aber die Stickstoffaufnahme ist etwa die gleiche, wie beim unbehandelten Boden. Die vermehrte Strohbildung im Schwefelkohlenstoffboden läßt sich vielleicht dadurch erklären, daß hier die allmähliche Bildung von Salpeter aus Ammoniak eine stetige fließende Stickstoffquelle bildet, die auf die Produktion von Pflanzensubstanz fördernd wirkt. Eine früher angeführte Tabelle vorliegender Arbeit zeigte, daß Kaliumsulfatauszüge der unbehandelten Böden fast durchweg nur äußerst schwach gefärbt waren im Gegensatz zu den stärker bräunlich gefärbten Schwefelkohlenstoffböden. Nach Heinze enthalten wässrige Auszüge aus CS_2-Böden Pektinstoffe, die den unbehandelten Böden fehlen. Die braune Farbe der Auszüge rührt sicher von Aufschließungsprodukten der Humusstoffe her. Verf. stellt nun Versuche an, um zu erforschen, ob hier die lösende Wirkung von Organismenenzymen oder des Ammoniaks die Ursache ist. Er kommt zu dem Schluß, daß die färbenden Substanzen wohl als Stoffwechselprodukte von nach der CS_2-Behandlung sich besonders stark vermehrenden Bodenorganismen aufzufassen seien.

Es folgen nun die Versuche des Verf. an Dahlemer Boden unter Zumischung von Ledermehl. In zwei Erlenmeyer-Kölbchen wurde je ein unbehandelter und ein mit Schwefelkohlenstoff behandelter Versuch angesetzt und bei Zimmertemperatur gehalten. Der CS_2-Boden blieb indessen in der Produktion löslicher Stickstoffsubstanz weit hinter dem unbehandelten zurück. Durch Erhöhung der Temperatur wird hier die Aufschließung des CS_2-Bodens noch verlangsamt. doch zeigt die starke Fadenpilzvegetation, daß wahrscheinlich ein großer Teil des Ledermehlstickstoffs in Pilzsubstanz übergegangen ist. Ein Zusatz von Gips, kohlensaurem Kalk, sowie gut nitrifizierender Komposterde brachte auch keine Änderung in die Aufschließungsverhältnisse. In einem weiteren Versuch wurde nun die Aufschließung des mit Ledermehl versetzten Bodens bei guter Durchlüftung studiert. Hier kam die aufschließende Wirkung des Schwefelkohlenstoffs wieder zum Vorschein und es wurde beim CS_2-Boden bedeutend mehr Ledermehl aufgeschlossen als im unbehandelten Boden. Es geht also hieraus hervor, daß durch üppig sich entwickelnde Fadenpilze die aufschließende Wirkung des Schwefelkohlenstoffs wieder aufgehoben wird. Der im Pilzkörper festgelegte Stickstoff wird aber viel langsamer aufgeschlossen und nitrifiziert als der Ledermehlstickstoff im unbehandelten Boden. Der Kulturversuch beim durchlüfteten Boden gab auch für die Schwefelkohlenstoffbehandlung einen erheblichen Mehrertrag. Die aus diesen Versuchen hervorgehende Förderung gewisser Fadenpilze durch Schwefelkohlenstoff ist von Wichtigkeit und rief die Vermutung wach, daß diese Pilze bei dem Zustandekommen der Schwefelkohlenstoffwirkung eine Rolle spielen könnten. Verf. beschäftigt sich nunmehr mit der Prüfung dieser Möglichkeit. Daß die Beförderung der Fadenpilzvegetation im Schwefelkohlenstoffboden auf entstehende Säure zurückzuführen sei, ist nach den Untersuchungen vom Verf. sehr unwahrscheinlich, es werden wohl chemische Veränderungen anderer Art den Grund hierfür bilden. Im ganzen sind übrigens diese Erscheinungen abnorm und für die Erklärung der Schwefelkohlenstoffwirkung ohne Bedeutung. — Im folgenden Kapitel wird die Schwefelkohlenstoffwirkung an Dahlemer Boden mit Gründüngungssubstanz untersucht. Der Zusatz an solcher durfte nicht zu gering sein, da eine prinzipielle Voraussetzung war, daß sich unzersetzte organische Substanz gegenüber humifizierter in der Mehrheit befand. Ferner durften nicht zu stickstoffreiche Pflanzen (z. B. Leguminosen) verwandt werden, wegen des geringen Ammoniak-Absorptionsvermögens des Bodens. Es wurde daher Kartoffelkraut gewählt. — Nach dem Beschicken der Versuchsgefäße machten sich zunächst bemerkenswerte Unterschiede nicht geltend. Erst nach 2½ Monaten zeigte der CS_2-Boden erheblich dunklere Färbung, dumpfen Geruch und stark alkalische Reaktion. Der unbehandelte Boden erschien normal und reagierte neutral. Die Kaliumsulfatextrakte der CS_2-Böden zeigten erheblich dunklere Färbung, doch hat die Stickstoffaufschließung durch Schwefelkohlenstoff kaum eine Förderung erfahren. In den CS_2-Böden ist die Humifizierung etwas weiter geschritten, wodurch aber der organisch gebundene Stickstoff nur noch schwerer aufschließbar gemacht wird. Bei beiden Böden ließ sich übrigens Stickstoffverlust nachweisen, der bei dem alkalischen CS_2-Boden leicht auf Ammoniakverflüchtigung beruhen könnte, dem widerspricht aber der gleiche Verlust im unbehandelten neutralen Boden. Es können auch Denitrifikationsvorgänge in Frage kommen. Das Kartoffelkraut muß von ebenso tiefgreifender Wirkung auf die Mikroflora des Bodens sein, wie der Schwefelkohlenstoff, infolge der Anhäufung von Ammoniak. Bei den folgenden Versuchen wurde dem Dahlemer Boden gebrannter Kalk zugemischt. Frühere Kulturversuche hatten für Roggen auf kalkhaltigem CS_2-Boden zwar normalen Auflauf gezeigt, doch begannen die Pflanzen bald zu kränkeln und blieben erheblich hinter unbehandelten zurück. Bei einer vorgenommenen Wiederholung dieses Versuchs gingen die Körner nur vereinzelt auf und Krankheitserscheinungen blieben aus. An den Versuchsgefäßen zeigte diesmal der unbehandelte Boden die stärkste alkalische Reaktion, aber keinen Ammoniakgeruch, der dagegen an den CS_2-Böden deutlich auftrat. Die Stickstoffbestimmungen zu Ende der Versuche gaben folgende Ergebnisse: Die Ammoniakbildung scheint weder im unbehandelten, noch im CS_2-Boden einem bestimmten Gesetze zu folgen, doch ist das Bild durch den Stickstoffverbrauch der Pflanzen, die in diesem Falle die Böden trugen, beeinflußt worden. In Wirklichkeit haben die Aufschließungsvorgänge einen normalen Verlauf genommen. Allerdings ist bei einem der CS_2-Böden die Aufschließung erheblich schwächer gewesen und der Schwefelkohlenstoff scheint hier schädlich gewirkt zu haben. Es wurde nachgewiesen, daß im gekalkten Boden durch CS_2-Behandlung irgend welche flüchtige Schwefelverbindungen entstanden sind, die wohl die bei Kulturversuchen beobachteten Schädigungen bewirkt haben mögen. Es wurden weitere Kulturversuche auf gekalkten und nicht gekalkten Böden mit und ohne Schwefelkohlenstoffbehandlung angestellt. Von 3 Versuchsreihen gab nur die 3. zuverlässige

Resultate. Hier ist die CS_2-Wirkung bei ungekalkten Böden deutlich erkennbar, bei gekalkten bedeutend verringert. Es wird mithin in gekalkten Böden die vegetationsfördernde Wirkung des Schwefelkohlenstoffs, mindestens für längere Zeit, stark herabgesetzt. — Bei den Versuchen mit Dahlemer Boden und Strohzusatz ist als wichtigstes Ergebnis zu konstatieren, daß sich CS_2-Boden und unbehandelter Boden völlig gleich verhalten. Eine wichtige Rolle scheinen bei den Stickstoffumsetzungen die Fadenpilze gespielt zu haben. Die vorgenommenen Kulturversuche geben kein Resultat, das sich ohne Einführung einer Hypothese mit den Befunden der chemischen Bodenuntersuchung in Einklang bringen ließe. — Komposterde verhält sich bei Schwefelkohlenstoffbehandlung ähnlich wie die Dahlemer Ackerkrume, nur ist hier die aufschließende Wirkung des Schwefelkohlenstoffs etwas geringer. Kulturversuche an Komposterde zeigen für die Schwefelkohlenstoffbehandlung eine mittlere Ertragssteigerung von 7,4 Proz. Stroh und 2,5 Proz. Körner. Im übrigen zeigt sich, daß bei Komposterde im CS_2-Boden die Vermehrung der leichtlöslichen Stickstoffverbindungen viel intensiver vor sich gehen kann als im unbehandelten Boden, und daß anderseits die Kulturpflanzen dem CS_2-Boden erheblich mehr Stickstoff als dem unbehandelten Boden entzogen haben. — Bei Versuchen mit Rohhumusböden ließ sich voraussehen, daß Veränderungen der Mikroflora nach CS_2-Behandlung mehr durch das Verhalten der Fadenpilze als der Bakterien gegen Schwefelkohlenstoff bestimmt sein werden. Die Kulturversuche erstreckten sich über 4 Bodenarten, nämlich einen Moorwiesenboden, zwei stark humushaltige Heideböden und eine noch wenig zersetzte Heidestreu (Rathenower Heideboden). Beim Moorwiesenboden wurde nachgewiesen, daß das Nitrifikationsvermögen trotz der sauren Reaktion des Bodens ziemlich groß sein muß. Die Pflanzen in den unbehandelten und den CS_2-Gefäßen entwickelten sich gleich kräftig, in den ersteren zeigten sich nach 14 Tagen leichte Schädigungen am ersten und zweiten Blatt, die sich im Verlauf etwas verstärkten und auch das dritte Blatt ergriffen. Diese Gefäße blieben gegen die unbehandelten etwas zurück. Die Halme in den CS_2-Gefäßen waren kürzer aber reichlicher bestockt als in den unbehandelten. Die Schwefelkohlenstoffbehandlung erzielte nur eine geringe Stickstoffmehrernte. Die an den Kulturpflanzen beobachtete Schädigung durch Schwefelkohlenstoff ist zu nachhaltig gewesen, als daß eine günstige Wirkung derselben durch einen Mehrertrag hätte erkannt werden können.

In Waldboden entwickelten sich die Kulturpflanzen nur schwach, hier lieferte die Schwefelkohlenstoffbehandlung höhere Ernten und auch einen höheren Stickstoffgehalt der Körner. Merkwürdig war das Verhalten des Heidebodens, in einem Fall lieferte die CS_2-Behandlung in bezug auf Körner eine völlige Fehlernte, doch waren alle Ernteprodukte auffallend stickstoffreich, in dem anderen Falle wieder war der Körnerertrag sehr reich, aber der Stickstoffgehalt der Ernteprodukte gering, zeigte aber immerhin ein erhebliches Plus gegenüber den nicht behandelten Gefäßen. Die Kulturversuche an Heidestreu verliefen ergebnislos, die Pflanzen blieben kümmerlich und schienen unter Stickstoffmangel zu leiden. Die CS_2-Pflanzen brachten es aber trotzdem bis zur Ährenbildung.

Über den Einfluß des Schwefelkohlenstoffs auf die Stickstoffumsetzung im Rohhumusboden kommt Verf. zu folgenden Resultaten: Diese Böden verhalten sich ähnlich den Kulturböden. Die Nitrifikation im nicht behandelten Boden ist allerdings in Anbetracht des vielen vorhandenen Ammoniaks schwach. Im CS_2-Boden steht die Nitrifikation von Anfang bis zu Ende still; der Ammoniakgehalt erfährt eine verhältnismäßig nicht sehr bedeutende Steigerung. Zum Schluß des Abschnittes faßt Verf. seine Versuchsergebnisse noch einmal kurz zusammen.

Der zweite Abschnitt handelt von dem Einfluß der Schwefelkohlenstoffbehandlung auf den Nitrifikationsvorgang im Boden. Das Wesentliche hierbei, was bereits gefunden wurde, ist, daß einer verschieden langen Hemmung der Nitrifikation ein kräftiges Wiederaufleben folgt. Ein Feldversuch des Verf. liefert folgendes: Im Winter sind die Nitratstickstoffwerte von unbehandeltem und CS_2-Boden nicht sehr verschieden. Im April steigen die Nitratgehälter beider Böden, besonders des CS_2-Bodens. Während der ersten 8 Tage des Versuches zeigte sich ein auffällig starker Rückgang des Nitratgehaltes, zumal beim CS_2-Boden. Wesentlich anders fielen die Ergebnisse des Gefäßversuches aus. Bereits 14 Tage nach der CS_2-Behandlung setzte hier die Nitrifikation wieder ein, hielt aber mit der des unbehandelten Bodens nicht gleichen Schritt und war zu Beginn des Frühjahrs erheblich zurückgeblieben. Es scheint, daß die durch Schwefelkohlenstoff geschädigten, aber noch lebenden Mikroorganismen nur unter günstigsten Verhältnissen ihre Vermehrungsfähigkeit und Aktivität wieder gewinnen. Ein wichtiges Moment hierfür wird gute Durchlüftung sein. — Zum Schluß seiner Arbeit befaßt sich Verf. mit einer Kritik der für die Erklärung der Schwefelkohlenstoffwirkung aufgestellten Theorien. Die Untersuchungen des ersten Abschnittes seiner Arbeit lassen sich im allgemeinen mit der Aufschließungstheorie in Einklang bringen. Bei der Aufschließung, als biologischer Vorgang betrachtet, kommt nach der Meinung vom Verf. vielleicht dem Actinomyces odorifer Rullm. (Streptothrix odorifera) als Humusvergärer und Stickstofferschließer eine wichtige Rolle zu. Aus einer Hiltnerschen Mitteilung läßt sich ferner schließen, daß durch Einwirkung von Schwefelkohlenstoff gewisse eiweißspaltende Bakterien zu intensiverer Tätigkeit gelangen. Für die Richtigkeit einer Reizwirkungstheorie fielen die Versuche vom Verf. im allgemeinen ungünstig aus. Verf. bringt noch einige Erklärungsversuche zur Besprechung und schließt mit dem Hinweis, daß vorliegende Untersuchung der Theorie der indirekten CS_2-Wirkung und zwar der sogenannten Aufschließungstheorie eine Stütze geben und zeigen, daß sie sich unter den verschiedensten Verhältnissen und Bedingungen bewährt.

Marshall (Halle a. S.).

Zemplén, Géza und **Roth, Julius,** Beiträge zur Stickstoffaufnahme des Waldes. (Erdészeti kisérletek-Forstliche Versuche, hrsg. von Eugen Vandas, Schemnitz in Ungarn. Jg. X. 1908. p. 1—61.) Magyarisch und deutsch. Mit 14 Taf.

C(ieslar), Adolf, Der Wald als Stickstoffsammler. (Centralblatt für das gesamte Forstwesen, Wien. Jg. 35. 1909. p. 89—92.)

Man hat sich stets Mühe gegeben, zu erforschen, auf welche Weise jene Stickstoffmengen dem Walde wieder ersetzt werden, welche mit der Holzernte aus dem Walde getragen werden, zumal in der Forstwirtschaft ja eine künstliche Bestandsdüngung nicht oder nur in ganz besonderen Fällen in Frage kommt. Pro 1 ha werden 11—12,75 kg gebundener Stickstoff durch die atmosphärischen Niederschläge dem Boden zugeführt. 1 ha Wald braucht nach Schröder pro Jahr an Stickstoff

zum Holzzuwachse:	Buche	10,34 kg,	Fichte	13,20 kg
zur Streuerzeugung:	„	44,35 „	„	31,92 „.

Die Nutzung der Holzernte allein vermag also eine Erschöpfung des Stickstoffvorrates im Waldboden nicht herbeizuführen, denn diese Stickstoffmenge wird schon durch jene wieder ersetzt, welche die atmosphärischen Niederschläge zu Boden bringen. Bedenklich freilich erscheint das Verhältnis des N im Waldboden dann, wenn Streunutzung eintritt oder wenn sonst durch unpflegliche Maßnahmen das N-Kapital des Waldbodens gefährdet erscheint.

Henry (Nancy) hat die Frage der Anreicherung des Bodens an N unter dem Einfluße der Waldbäume zu langjährigen Studien gemacht; er legte seine Resultate im Journal d'agriculture pratique 1907 ff. nieder. Er fand, daß eine Stickstoffmenge, die in ihrer Größe von jener in bebauten und gedüngten Ackerböden kaum erreicht und nur sehr selten übertroffen wird.

Neuerdings fand man, daß durch Frost die von den Bodenbakterien ausgeübte stickstoffbindende Kraft stark herabgesetzt wird und sich erst nach Monaten wieder erholt. Kahlhiebe, welche den Waldboden den winterlichen Frösten vollends preisgeben, sind somit der N-Ansammlung im Boden durchaus nicht förderlich. Phosphorsäure und auch Thomasmehl erhöhen die N-Bindung beträchtlich. Der von den Bakterien aufgenommene Luftstickstoff wird rasch nitrifiziert. —

Kann nun die Aufnahme des Stickstoffes aus der Luft durch Blattorgane der Waldbäume erfolgen? R. Hartig, Potonié und Frank glauben, daß der Stickstoff der Luft den Pflanzen als solcher zugänglich sei. Die Vermittlung der Mykorrhiza durch Wurzelknöllchen der Schmetterlingsblätter kann hier übergangen werden. Jamieson zeigte nun, daß die Pflanzen in ihren diversen Trichomen Organe besitzen, mit welchen sie den Stickstoff direkt aus der Luft aufnehmen können; er fand „Stickstoffbinder" auch bei Acer, Tilia, Ulmus, Sorbus, Fagus und Abies concolor. Diese Organe haben die Gestalt von Drüsenhaaren, Keulen oder sind perlschnurartige Gebilde.

Zemplén und Roth verfolgten die Frage weiter und konnten die Ansichten Jamiesons bestätigen. Sie fanden folgendes:

1) Bei den Laubbäumen haben die Stickstoffsammler die Form von gestielten Köpfchen oder Keulen, bei Tilia, Carpinus, Fagus sind sie perlschnurähnlich, bei Fraxinus trichterförmig, bei Sophora und Sorbus gurkenähnlich. Bei einigen Cupuliferen kommen 2 Formen vor: Runder Kopf auf kurzem Stiele oder eine lange Perlschnur. Zumeist sitzen die Organe an den Stielen und Adern der Blätter, auch an den jüngsten Trieben und Früchten.

2) Bei den Nadelhölzern fanden sie gestielte Köpfchen, doch auch einfache oder gegliederte Haare. Die Stickstoffreaktion ist hier schwächer als bei den Laubhölzern, doch findet man sie auch an alten Trieben. Die Lebens- und Funktionsdauer der Gebilde ist bei den Laubhölzern eine kürzere und wohl deshalb auch eine intensivere.

3) Da heranreifende Früchte (z. B. Juglaus regia) in den Drüsenhaaren viel N haben, so liegt nahe anzunehmen, daß der von dem Trichomen gesammelte N zum Aufbaue der N-reichen Fruchtgewebe dient.

4) Der Nachweis des N wurde mit Jod, Biuret und Millonschem Reagens geführt; die vom Gewebe losgelösten Organe wurden auch einer direkten chemischen Analyse unterzogen.

5) Rührt der Stickstoff, der im Eiweiß der Trichome (Stickstoffbinder) sich findet, nicht aus anderen Teilen der Pflanze her, d. h. ist er nicht in die

Trichome eingewandert? Gegen diese Annahme sprechen aber folgende Umstände: Ganz junge Stickstoffsammler zeigen keine Eiweißreaktion, erst bei einer gewissen Entwicklungsstufe beginnt die Reaktion und zwar immer im Kopfteile des Trichoms; erst später färben sich auch die unteren Teile (der Fuß). Bei der Annahme einer Einwanderung des N müßte die Färbung unbedingt zuerst im Fußteile der Trichome auftreten.

6) Der Stickstoffgehalt des Waldbodens wird also durch die Bäume gesteigert. Matouschek (Wien).

Squires, J. H., Experiments in the growth of clover on farms where it once grew but now fails. (Cornell University. Bull. 264. März 1909.)

Das vollständige Versagen des Klees auf vielen Gütern des Staates New York ist nach den Versuchen des Verf. fast ausschließlich auf Mangel an Kalk zurückzuführen. Niemals war ein Mangel an Knöllchenbakterien vorhanden. Pflanzenkrankheiten und tierische Schädlinge kamen nur in vereinzelten Fällen in Betracht. Dagegen war Mangel an Kalk stets festzustellen. Kunst- und Stalldünger gaben eine geringe Mehrernte, während Kalk die Ernte verdoppelte. Otto Rahn (East Lansing, Mich.).

Kaserer, Hermann, Ersatz des Chilisalpeters in der Zukunft. *α.* Ersatz durch Stallmist und verschiedene wirtschaftliche Maßnahmen. *β.* Vom biologischen Standpunkte. (VIII. Congrès internat. d'Agricult. Vienne 1907. Bd. 2. Sektion III/A. Referat 4 *β.* p. 1—7. Vienne 1908.)

Vom biologischen Standpunkte aus zerfällt die Frage des Ersatzes des Chilisalpeters in 2 Teile:

1) Auf welche Art kann der Stickstoffvorrat des Bodens überhaupt vergrößert werden?

2) Durch welche Maßregeln kann den Pflanzen jeweils eine möglichst reichliche Menge von N als Nitrat zur Verfügung gestellt werden?

Zu 1. Die Vergrößerung des N-Vorrates im Boden erfolgt durch Bakterien in Symbiose mit grünen Pflanzen, aber auch durch freilebende N-bindende Bakterien (Knöllchenbakterien, Clostridium Pastorianum, Azotobacter). Über den Mechanismus der N-Bindung bei den letztgenannten 2 Bakterien ist nichts sicheres bekannt: Die Reduktion des Stickstoffes durch Wasserstoff in statu nascendi zu Ammoniak ist zwar eine naheliegende, aber vorläufig unbewiesene Annahme. Die Arbeitsleistung kennen wir aber gut. Es gibt aber auch noch andere N-bindende Bakterien: Bacillus azotofluorescens, B. Hiltneri, B. destructor usw. Da ihre autotrophe Lebensweise bekannt ist, ist bei ihnen die Stickstoffbindung in ihrem Mechanismus aufgeklärt. Ihre Wirkung ist folgende:

B. azotofluorescens . . . . . Ammoniakcarbonat wird oxydiert zu N und H_2O unter Assimilation von CO_2,
B. Hiltneri . . . . . verbrennt Cyanide,
B. destructor . . . . . zerstört Harnstoff unter Entbindung von N und CO_2.

Da diese 3 Arten bei Kultur in N-freier Zuckerlösung auch kräftig N binden, handelt es sich bei diesen Organismen hinsichtlich der N-bindung um einen enzymatischen Vorgang, der je nach den Energieverhältnissen nach der einen oder anderen Richtung verlaufen kann. Bei anderen Bakterien dürfte die Bindung wieder in anderer Weise verlaufen. Die Zählung der in der Ackererde vorhandenen Keime führt zu keinem Ziele, da ja, selbst wenn es uns gelingen sollte, für solche Zwecke geeignete Nährböden herzustellen und die Organismen richtig zu bestimmen, wir doch meist nicht mit Sicherheit werden feststellen können, nach welcher Richtung hin die einzelnen Prozesse gerade verlaufen. Eine direkte Zufuhr von Bakterien (Impfung der Erde mit Reinkulturen) verspricht nach den bisherigen Versuchen keinen Erfolg, da die im Boden stets in Massen vorhandenen N-bindenden Bakterien, sofern für dieselben günstige Bedingungen hergestellt werden, sofort kräftig ihre Tätigkeit aufnehmen. Wahrscheinlich machen sich die Mikroorganismen des Bodens auch diejenige Wärme zunutze, welche bei der Oxydation elementaren Stickstoffes zu Salpetersäure frei wird; es ist Hoffnung vorhanden, durch das Studium dieser noch nicht rein gezüchteten, im vollen Sinne des Wortes von der Luft lebenden Organismen eine neue Stickstoffquelle in der Erde aufzudecken. Die Umwandlung der im Boden vorhandenen, im Stallmist, in der Gründüngung, im Ammonsulfat und Kalkstickstoff zugeführten Stickstoffverbindungen zu Salpeter ist landwirtschaftlich ebenso wichtig, wie die Gewinnung des gebundenen Stickstoffes. Denn erst diese Umwandlung macht den Kulturpflanzen den N zugänglich. — Über die Eiweißfäulnis ist leider noch wenig für bodenbiologische Zwecke Brauchbares bekannt, da die Frage, ob und unter welchen Umständen als Endprodukt der Fäulnis N entweicht, also verloren geht, noch nicht gelöst. Außer der schon gut studierten Umwandlung des Harnstoffes in Ammoniumkarbonat konnte der Verf. noch andere Möglichkeiten der Umwandlung des Harnstoffes feststellen: a) Einige Bakterienarten (z. B. Bacillus destructor) verbrennen Harnstoff zu N, CO_2, H_2O; b) Bacillus uronitrosus führt die Oyxdation in einer Phase bis zum Nitrit durch. Welche Richtung jeweils der Prozeß annimmt, kann so beantwortet werden:

1) Nur bei Anwesenheit löslichen Kohlenstoffes neben Harnstoff tritt die bekannte Harnstoffgärung ein.

2) Bei Anwesenheit löslicher Kohlenstoffverbindungen tritt Oxydation ein und zwar bei Anwesenheit von viel O Oxydation zu N, in einer CO_2-reichen Atmosphäre mit nur wenig O Oxydation zu Nitrit.

Diese Ergebnisse dienen mit zur Erklärung der bekannten konservierenden Wirkung einer CO_2-Atmosphäre und des teilweisen Luftabschlusses auf jauchehaltigen Stallmist.

Der Kalkstickstoff verhält sich wie Harnstoff, d. h. nur bei Anwesenheit von Humus usw. erfolgt eine Umwandlung in Ammoniak. Kalkstickstoff ohne organische Substanz unterliegt der Zerstörung unter Entbindung von N durch den oben genannten Bacillus Hiltneri. Wenn also den Bodenorganismen nur der C des Kalkstickstoffes zur Verfügung steht, tritt Zerstörung des letzteren, andernfalls Bildung von Ammoniak ein. Daraus ergibt sich wiederum der hohe Wert der sog. alten Kraft (des Humusgehaltes) einer Ackererde. Denn der im Boden vorhandene lösliche C kann, indem er den Bakterien als Stoff und Energiequelle dient, die biologischen Prozesse in der Weise beeinflussen, daß die Mikroorganismen die N-Verbindung wohl verwandeln, aber nicht zerstören. Für jeden Boden scheint ein gewisser Gleichgewichtszustand zwischen N und C zu bestehen, der natürlich auch von der chemischen Zusammensetzung, der

Bodenreaktion, den Wasser- und Temperaturverhältnissen beeinflußt wird. Dieser „gleitende“ Gleichgewichtszustand würde bedingen, daß überhaupt eine einseitige Änderung einer Komponente unmöglich erscheint. Eine Vermehrung des N-Gehaltes eines Bodens ist ohne Vermehrung der organischen Substanz kaum möglich; jede Vermehrung oder Verminderung der organischen Substanz bringt eine Änderung im Stickstoffgehalt des Bodens mit sich.

Die letzte Phase der Umwandlung des N in der Ackererde, die Nitrifikation, ist gründlich studiert worden. Verf. konnte nachweisen, daß außer den bekannten zwei spezifischen Organismen auch noch andere existieren, die zwar auch nur bei Abwesenheit von organischer Substanz nitrifizieren, im Gegensatze zu den bisher bekannten Salpeterbakterien aber auch auf Gelatine wachsen können. Die Anschauungen über die Oxydation des Ammoniaks in kohlensaurer Lösung behalten aber ihre Giltigkeit bei. Das Ammoniumkarbonat in alkalischer Lösung wird aber nicht nitrifiziert: es wird durch Bacillus azotofluorescens usw. zu N und H_2O verbrannt. Vom landwirtschaftlichen Standpunkte aus ist dieser Prozeß gewiß sehr schädlich; er wird sich dort abspielen, wo organische Substanzen mit großen N- und kleinem C-Gehalte vorhanden, wo also freies Ammoniak auftritt, z. B. wenn eine Gründüngungsmasse verfault (in schwerem Boden oft vorkommend). Mischt man zu ihr Stallmist oder Stroh, so ändert sich das Verhältnis von N zu C und die Entstehung von freiem Ammoniak und damit der alkalischen Reaktion wird verhindert.

Werden all diese und noch andere Fragen gründlich studiert worden sein, so wird es möglich sein, daß der Landwirt durch Produktion gebundenen Stickstoffes und durch rationelle Ausnützung des N sowohl des Bodens, als auch der Düngung seinen Pflanzen ohne bedeutende Kosten eine reichliche Stickstoffernährung wird gewähren können.

Matouschek (Wien).

Stoklasa und **Ernest**, Beiträge zur Lösung der Frage der chemischen Natur des Wurzelsekretes. (Jahrbücher f. wissensch. Botanik. Bd. 46. p. 55.)

Die Verff. zogen verschiedene Pflanzenarten (Gerste, Mais, Hafer, Buchweizen) unter bestimmten, genau beschriebenen Bedingungen in Wasserkulturen und analysierten die gasförmigen und flüssigen Wurzelausscheidungen. Bei der Sauerstoffatmung des Wurzelsystems gelang es nicht, organische Säuren nachzuweisen. Die einzige Säure, welche sich bei der aëroben Atmung vorfand, war Kohlensäure. Kali und Phosphorsäure konnten, im Gegensatz zu den Angaben Czapeks, niemals in den Wurzelausscheidungen festgestellt werden. Durch die Atmungsprozesse entstehen allerdings im Wurzelsystem Alkohol und aus diesem Acetaldehyd, Essig- und Ameisensäure. Diese Säuren werden aber bei vollem Luftzutritt nicht ausgeschieden. Wurde dagegen an Stelle von Luft ein aus 94 Proz. Stickstoff und 6 Proz. Sauerstoff bestehendes Gasgemisch durch die Versuchsgefäße geleitet, so waren die genannten Säuren nachzuweisen, da nunmehr die Oxydationsvorgänge nicht mit voller Energie verliefen.

Bei anaëroben Atmungsversuchen konnten neben Essig- und Ameisensäure stets Acetaldehyd und Aceton konstatiert werden. Diese Substanzen sind starke Pflanzengifte, und es erklären sich so die Schädigungen, welche die Pflanzenwurzeln bei Sauerstoffmangel im Boden oft erleiden.

Im Wurzelsekret der Zuckerrübe konnten Essigsäure und Oxalsäure nachgewiesen werden. Die Verf. bemerken hierzu: „Wenn man nun bedenkt, daß die Giftwirkung der oxalsauren Salze namentlich auf chlorophyllhaltige Gewächse schon eine so heftige ist, so unterliegt es doch gar keinem Zweifel, daß durch die Bildung der Oxalsäure bei abnormaler Atmung der Rübenkeimlinge sicherlich toxische Wirkungen auf den jungen Organismus der Wurzeln ausgeübt werden.“ Bei Kultivierung von Hyacinthus orientalis in einer Wasserstoffatmosphäre konnte ebenfalls Oxalsäure in den Ausscheidungen nachgewiesen werden.

Die an der Menge des ausgeatmeten Kohlendioxyds gemessene Atmungsenergie ist umso größer, je zarter das Wurzelsystem ist. Aus dem mitgeteilten umfangreichen Analysenmaterial ergibt sich, „daß die Atmungsenergie des Wurzelsystems der Kulturpflanzen ungemein variiert. Eigentümlich verhalten sich namentlich die Gerste und der Hafer. Wir fanden, daß das größte Quantum der Trockensubstanz der Wurzeln während der verschiedenartigen Vegetationsperioden immer bei der Gerste vorhanden ist, und infolgedessen produziert auch die Gerste die größte Menge Kohlendioyxd. Betrachten wir aber weiter die Quantitäten des innerhalb 24 Stunden ausgeatmeten Kohlendioxyds, auf 1 g Trockensubstanz des Wurzelsystems berechnet, so finden wir hiervon für Gerste das kleinste Quantum.“

Da es sich herausstellte, daß auch die Wurzeln der anderen Getreidearten das Wurzelsystem der Gerste an Atmungsintensität übertrafen, so sollte bei weiteren Versuchen geprüft werden, ob auch bei der Assimilation von Kali und Phosphorsäure das Wurzelsystem der Gerste sich am wenigsten energisch zeigt. Zu diesem Zwecke wurden Vegetationsversuche in pulverisierten Gesteinen, Gneis und Basalt, unter Zugabe von Ammoniaksalzen ausgeführt. Es war in der Tat bei Gerste die geringste, beim Hafer die größte Produktion an Pflanzensubstanz zu verzeichnen. Dieser Befund erklärt sich aus der verhältnismäßig schwachen Sekretion von Kohlensäure und der damit zusammenhängenden geringeren aufschließenden Kraft der Gerstenwurzeln gegenüber den pulverisierten Gesteinen. Die Aufnahmefähigkeit für die schwer löslichen mineralischen Bodenanteile steht also in direkten Beziehungen zu der, bei den einzelnen Pflanzengattungen sehr erheblich variierenden Atmungsintensität. Vogel (Bromberg).

Buchwald und **Neumann**, Über das Bleichen der Mehle. (Zeitschr. f. d. ges. Getreidewesen. Bd. 1. 1909. Heft 6.)

Verff. besprechen die Möglichkeit, durch künstliche Bleichung die Farbe des Mehles zu verbessern; von den hierfür in Betracht kommenden flüchtigen Mitteln verschlechtert sowohl Chlor wie Schwefeldioxyd die Qualität des Mehles so, daß es dadurch unbrauchbar wird, Ozon gibt dagegen einen unangenehmen Geruch. So blieb von Gasen, die wesentlich nur in Betracht kommen können, die Anwendung der Stickoxyde übrig, auf der sich das Alsopsche Verfahren aufbaut.

Die Stickoxyde werden durch Elektrizität erzeugt, durch ihre Einwirkung geht die schwach gelbliche Farbe, die man bisher in Deutschland bei feinem Weizenmehl besonders schätzt, in fahlweiße Töne über, doch kann man bei schwächerer Bleichung die gelbe Farbe behalten, dafür aber statt nur 30-proz. Ausbeute eine solche von 35—38 Proz. vornehmen. Der erlangte Vorteil liegt somit in einer Verschiebung der Ausbeutegrenzen, die als Täuschung zu bezeichnen ist.

Die bleichende Wirkung des Stickstoffdioxyds beruht auf einer Veränderung des Weizenmehlfettes. Die diastatische Kraft der Mehle, ausgedrückt im Verzuckerungsvermögen, scheint bei der schwachen, also normal in Frage kommenden Bleichung anzusteigen, um bei der stärkeren Bleichung zu sinken. Die Gärung der gebleichten Mehle verlief bei diesbezüglichen Versuchen normal, Verbesserung des Mehles für den Backprozeß, wie behauptet, findet durch das Bleichen nicht statt. Ehrenberg (Breslau).

Böck, Friedrich, Über Selbstentzündung. (Schriften d. Ver. z. Verbreitung naturwiss. Kenntn. in Wien. Bd. 47. 1907. p. 349—389).

Die unter den Begriff „Selbstentzündung" fallenden Erscheinungen unterscheiden sich von einem gewöhnlichen Verbrennungsprozesse nur dadurch, daß die Vereinigung des Sauerstoffes mit den Elementen des brennbaren Körpers, wenigstens anfangs, nur sehr langsam vor sich geht. Die langsame Verbrennung kann aber derart beschleunigt werden, daß es endlich zum Ausbruche des Brandes kommt; die Ursachen sind dann gute Isolation gegen Wärmeverlust oder Steigerung der Oxydation durch innigere Berührung zwischen Brennmaterial und Sauerstoff. —

Der Verf. bespricht eingehend die Selbsterwärmung und -Entzündung bei Kohle, Heu und geölten Substanzen, indem er stets die Gegenmittel anführt. Über Heuentzündung hat Miehe in der letzten Zeit ausführlich berichtet. Uns interessieren hier mehr die sog. trocknenden Öle (Firnis, Leinöl). Die Oxydation (das Trocknen der Öle) kann sich so stark steigern, daß eine thermische Zersetzung unter Bildung feinst verteilten pyrophoren Kohlenstoffes oder anderer pyrophoren sauerstoffsüchtiger Substanzen eintritt. Es müssen also schlechte Wärmeleiter (Watte, Gewebe, Seile, Sägespäne) mit solchem Öle getränkt zusammengeballt liegen. Besonders sind die „Sikkative" gefährlich, ganz ungefährlich aber die nicht trocknenden Öle (Vaseline, Schmieröle, Petroleum). — Anschließend daran bespricht Verf. die Selbstentzündung gerösteter Kleie, von Kaffee, Mehl, Malz. Es werden hierbei gebildet: pyrophore Kohle und auch diverse öl- oder teerartige Zersetzungsprodukte mit großer Empfindlichkeit gegenüber Sauerstoff. Was das Zelluloid anbetrifft, so stellt sich Verf. im Gegensatz zu den Fachmännern, die an eine Selbstentzündung nicht glauben. Experimente des Verf. zeigen aber, daß der Kampfer bei Hitze sich verflüchtigt, Trübung und unter Austritt von gelbbraunen Rauches eine Verkohlung der Substanz eintritt. Da die Gase brennbar sind, so kann bei größeren Proben Selbstentzündung („Stichflamme") eintreten. Matouschek (Wien).

Kühl, Zersetzung organischer Stoffe durch Bakterien. (Pharm. Zentralhalle. Bd. 50. 1909. No. 10.)

Bekanntlich wird bei der Lederbereitung die tierische Haut einem Gärungsprozeß unterworfen. Man verwendet in der Praxis verschiedene Gärungsorganismen oder sogenannte Beizen (Kleienbeize, Haferstrohbeize und Essigsäure- und Milchsäure-haltige Lohbrühen). Besonders wertvoll ist die „saure Milchsäure", ihre Gewinnung spielt daher für die Gerbereien eine wichtige Rolle. Der Verf. hat zu seinen Versuchen die Säurebildung in einem wässrigen Kleie- bezw. Strohaufguß verfolgt, aber nicht die Bakterienart, die bei diesem Prozeß eine Rolle spielt, festgestellt. Für seine Versuche verwendete er Aufgüsse von Roggenkleie und Haferstroh mit verschiedenen Mengen Wasser. Die Art der Zersetzung organischer Stoffe hängt von ihrem Wassergehalt und ihrer Zusammensetzung ab. Beobachtet wurde die Zersetzung der Kleie, des Strohes und die Säurebildung. Die Massen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

schimmelten zuerst und der Säuregehalt der Masse war in den ersten Tagen sehr hoch, um dann wieder auf einen geringen Grad herabzugehen. Welche Säuren gebildet wurden, hat der Verf. nicht bestimmt. Die Haferstrohbeizen bilden geringere Mengen von Säure als die Kleiebeizen, was auch in Einklang mit den Erfahrungen in der Praxis steht, diese gilt in der Gerberei als milder. Wedemann (Gr.-Lichterfelde).

Sturli, Adriano, Über ein in Schimmelpilzen (Penicillium glaucum) vorkommendes Gift. Teil I. (Wiener klin. Wochenschr. Jahrg. 21. 1908. p. 711—714.)

Gosio beobachtete, daß gewöhnliche Schimmelpilze der Art des Penicillium glaucum giftige Stoffwechselprodukte auf kohlehydrathaltigen Nährböden bilden können. Diese Beobachtung (Zeitschrift für Tuberkulose, Bd. 11, Heft 4, p. 283) gab zu zahlreichen Untersuchungen Anlaß, da die Tatsache in engstem Zusammenhange steht mit der Ätiologie einer der tückischesten Endemien, die in mediterranen Ländern und in Österreich einen großen Teil der Bauernbevölkerung zum frühzeitigen und manchmal unheilbaren Siechtum verurteilt — wir meinen die Pellagra, an deren Zustandekommen allgemein der verdorbene Mais beschuldigt wird. Der Verdacht lenkte sich schon frühzeitig auf die Schimmelpilze (V. Sette 1826, Balardini 1845). Doch sprach Lambroso 1893 jede spezifische Pathogenität oder Giftigkeit den Schimmelpilzen ab. Gosio (1896) schrieb den Schimmelpilzen die Fähigkeit zu, Verbindungen der Fettsäurereihe in solche der aromatischen Reihe umzuwandeln, also eine „aromatische Gärung“ hervorzurufen. Die entstandenen Produkte sollten Phenole oder Phenolsäuren sein und giftig wirken. Nach der Publizierung der Arbeiten von Ferrati, Cenis und Di Pietro modifizierte Gosio seine Ansichten und glaubte, daß die Gifte Glykoside sind, wobei er aber immer hervorhob, daß der aromatische Kern der integrierende und maßgebende Bestandteil des Giftes sein dürfte. — Verf. verschaffte sich alkoholischen Extrakt eines Penicilliums, das aus Polenta isoliert wurde; der Pilz wurde auf Raulin bis zur völligen Sporifikation gezüchtet und erwies sich für Kaninchen sehr toxisch, was genau beschrieben wird. Es zeigte sich, daß das Gift weder ein Phenol, noch eine Säure, noch ein Alkaloid ist. Matouschek (Wien).

Jourde, Antoine, Etude de quelques moisissures thermophiles (Aspergillus Micheli, Sterigmotocystis Cramer, Poecilomyces Bainier). 8⁰. 111 p. avec 2 pl. Lons-le Saunier 1908.

Die Mucorineen und Mucedineen der warmblütigen Tiere haben zwei Eigenschaften gemeinsam: Sie haben Sporen oder Konidien im Durchmesser 2—6 μ messend und ein Kulturoptimum bei 37° C. Wie steht es mit ihrer Schädlichkeit? Diese Frage studierte Verf. Zuerst beschreibt er sehr genau nach der von Lutz und Guéguen empfohlenen Weise, und erhält folgende Resultate:

1) Die endogene Bildung der Konidien, welche früher schon für Aspergillus candidus, Penicillium crustaceum, Monilia candida und Gliomastix chartarum von anderer Seite nachgewiesen wurde, konnte Verf. auch bei Sterigmatocystis nigra, carbonaria und fusca nachweisen.

2) Es existiert eine Übereinstimmung zwischen dem Keimungs- und Wachstumsoptimum.

3) Gegen Alkalien sind gewisse Schimmelpilze sehr empfindlich; eine schwache Alkalität der Bouillons genügt, um die Kulturen zu vernichten und die Bildung der die Gelatine hydrolisierenden Enzyme zu verhindern. Bei Poecilomyces vermögen die Enzyme große Mengen Glukose aus dem Amidon zu bilden.

4) Bezüglich der Pathogenität: Aspergillus fumigatus und Sterigmatocystis nidulans sind recht wirksam, St. lutea und fusca etwas weniger; St. nigra und carbonaria töten Kaninchen erst dann, wenn 200 Millionen Konidien einverleibt werden; letztere keimen aber im Tierkörper nicht. Poecilomyces Varioti wirkt gar nicht, auch wenn solche Massen dem genannten Versuchstiere eingeimpft werden — ein Zeichen, daß die zwei vorher erwähnten Arten in je einer anderen Weise auf das Tier wirken müssen.

5) Zwischen der pathogenen Kraft und dem ± großen Widerstand der Pilze gegen Alkalien und Säuren besteht eine Beziehung. Die ± große Alkalität des Blutes diverser Warmblütler hat keinen Einfluß auf die Empfänglichkeit gegenüber gewissen mykotischen Ansteckungen.

Matouschek (Wien).

Kühl, Das Vorkommen einer Oidiumart auf eingemachten Früchten. (Pharm. Zentralhalle. Bd. 50. 1909. p. 317.)

Verf. beobachtete auf Ananasfrüchten, die mit Zucker eingekocht und in Glasgefäßen, die mit Pergamentpapier verschlossen waren, einen zarten kakaobraunen Pilzrasen. Er studierte die Lebensbedingungen dieses in der Literatur noch nicht erwähnten Pilzes. Es scheint kein harmloser Schimmel zu sein.

Wedemann (Gr.-Lichterfelde).

Mießner, Über die Giftigkeit der Rizinussamen. (Mitteil. a. d. Kaiser Wilhelms-Institut für Landwirtschaft in Bromberg. Bd. 1. 1909. Heft 3. p. 217.)

Im Auftrage des Ministeriums hat der Verf. eingehende Untersuchungen über die Rizinussamen und das in ihnen enthaltene Gift, das Rizin, angestellt. Da die Samen sich häufig in Futtermitteln finden und dort großen Schaden an dem damit gefütterten Tierbestande hervorrufen können, so ist es von Wichtigkeit, das Gift in den Futtermitteln nachweisen zu können.Die chemische Untersuchung versagt hier völlig, da die Konstitution des Rizins unbekannt ist und spezifische Reaktionen nicht ausgelöst werden. Ehrlich erkannte das Rizin als ein Toxin und zeigte, daß es sich gar nicht von den bakteriellen Toxinen unterscheidet. Somit mußte die biologische Methode zum Nachweis des Rizins am meisten Aussicht auf Erfolg bieten. Und in der Tat gelangte der Verf. auf diesem Wege zum Ziel. Das Verfahren gründet sich darauf, daß das Serum von rizinimmunen Tieren beim Zusammenbringen mit Rizinlösungen aus diesen das Rizin präzipitiert. Man verfährt zum Nachweis des Rizins so, daß man 1 g des fein verriebenen Futters mit 10-proz. Kochsalzlösung, welche die Giftigkeit des Rizins nicht erhöht, anrührt und den Brei mit derselben Kochsalzlösung auf 100 ccm auffüllt. Nach 24stündigem Stehen oder Schütteln wird filtriert. 1 ccm des klaren Filtrates wird sodann in einem Reagensröhrchen mit 0,1 Antirizinserum 1 Stunde lang bei 37° gehalten. Wird nach dieser Zeit ein deutlicher flockiger Bodensatz beobachtet, so ist der Nachweis für das Vorhandensein von Rizinussamen in dem Futter erbracht. Eine quantitative Bestimmung ermöglicht allerdings auch diese Methode nicht, immerhin ist aus der Schnelligkeit, mit welcher der Niederschlag entsteht, und aus der Stärke der Trübung ungefähr zu ersehen, ob viel oder wenig Rizinussamen in einem Futtermittel enthalten ist.

Außer diesem Verfahren empfiehlt der Verf. noch den Tierversuch mit Kaninchen zum Nachweis von Rizinussamen in Futtermitteln. Der typische Obduktionsbefund des eingegangenen Tieres läßt einen sicheren Rückschluß auf das Vorhandensein von Rizinussamen in dem ihm subcutan applizierten Futter zu. Es läßt sich aber auch eine einigermaßen quantitative Analyse durch den Tierversuch erreichen, indem man dem Versuchstier bestimmte Mengen des Futters beibringt. Da die Todesdosis für Kaninchen bestimmt worden ist, läßt sich ungefähr aus der Wirkung die vorhandene Giftmenge feststellen.

Zur Diagnose einer Rizinvergiftung ist die Präzipitationsmethode, wie der Verf. feststellte, nicht anwendbar.

Des weiteren stellte der Verf. Versuche an über den Einfluß höherer Temperaturen auf die Giftigkeit des Rizins. Es ist festgestellt worden, daß eine feuchte Erwärmung auf 100° völlig genügt, um die Rizinussamen zu entgiften, während bei trockener Erhitzung 130° erforderlich sind. Die oben angeführten Methoden zum Nachweis des Rizins erwiesen sich als geeignet, den Nachweis der Entgiftung der Samen zu bringen. Das ist forensisch von allergrößter Bedeutung, da nunmehr eine schnelle und sichere Kontrolle darüber möglich ist, ob ein Futtermittel Rizinussamen enthält oder nicht. Der mikroskopische Nachweis von Rizinussamenschalen besagt gar nichts, da diese, wie Versuche des Verf. bestätigen, völlig ungiftig sind.

Durch in größtem Maßstabe angestellte Tierversuche hat der Verf. die Todesdosen für verschiedene Tiere festgestellt, nämlich für Hühner, Ziegen, Enten, Ferkel, Kühe, Schweine, Schafe, Kaninchen, Kälber, Gänse und Pferde. Es ergab sich dabei die interessante Tatsache, daß die Todesdosis bei mehrtägiger Verfütterung etwa ½—¾ der Todesdosis bei einmaliger Fütterung beträgt. Zeller (Bernburg).

Lamson, G. H., Infection and preservation of eggs. (Storrs Exper. Stat. Connect. Bull. 55. 1909 Februar.)

Die Bakterien, welche die Zersetzung der Eier verursachen, sind gelegentlich im normalen, häufiger im kranken Ovidukt der Henne vorhanden. Sie können auch durch die Schale hindurch in das Ei gelangen, wenn diese feucht ist. Die meisten Eier enthalten Bakterien. Sobald diese sich vermehren, verursachen sie ein Schrumpfen des Eis, was einen Hohlraum zwischen Schale und Eiweiß verursacht, und schließlich mischt sich der Dotter mit dem Weißen.

Die im April, Mai und Juni gelegten Eier enthalten weniger Bakterien als die Hochsommereier, und halten sich daher besser.

Das empfehlenswerteste Mittel zur Eikonservierung ist im Großbetriebe das Kalthaus, im Hausgebrauch das Wasserglas (käufliches Wasserglas, mit 9 Teilen Wasser verdünnt). Die vollkommen untergetauchten Eier halten sich, wenn sie normal sind, ein bis zwei Jahre, ja bis vier Jahre lang.

Bei der Haltung von Hennen sollte man auf gesunde Tiere, genügendes Futter zur Erzielung dickschaliger Eier, auf reinliche trockene Nester und auf recht baldiges Einlegen der Eier in Wasserglas Wert legen.

Otto Rahn (East Lansing, Mich.)

Heymons, R., Ein neuer Troctes als Schädling in Buchweizengrütze. (Deutsche entomolog. Zeitschr. 1909. p. 452—455. m. 3 Textfig.)

In Berlin fanden sich in einem Haushalte in einem Gefäße mit der genannten Grütze viele graue kleine Insekten. Verf. bestimmte das Tierchen als Troctes corrodens n. sp., verwandt mit T. bicolor Bkz., der in Virginien unter Baumrinde gefunden wurde. Das Heimatsland ist unbekannt; es handelt sich um eine Einschleppung aus wärmeren Ländern. Insekten, die in unseren Breiten Schädlinge an Mehlvorräten und Getreideprodukten sind, pflegen vielfach unter ursprünglichen Verhältnissen Bewohner von Baumrinden zu sein, wie dies z. B. für Echocerus cornutus F., Uloma culinaris B., Laemophloeus ferrugineus St. der Fall ist. Solche Insekten lieben Feuchtigkeit; diese stand in dem wasserdampfreichen Küchenraume des Berliner Haushaltes dem Troctes zur Verfügung. Wurde das Gefäß in ein trockenes Zimmer gebracht, so starben die Schädlinge, welche arg wirtschaften konnten, ab.

Das Umschütteln der Vorräte wäre zu empfehlen. Es ist ja nicht ausgeschlossen, daß sich der Käfer bald in größeren Magazinvorräten einbürgern dürfte. Matouschek (Wien).

Du Pasquier, Paul, A. Beiträge zur Kenntnis des Tees. (Vierteljahrsschr. d. naturforsch. Gesellsch. in Zürich. Jahrg. 53. 1908. p. 295 —365.)

Während A. Schulte am Hofe (1901) noch zugestand, daß möglicherweise den Bakterien eine Rolle bei der Fermentation der Teeblätter zukomme, hat P. Waghel („Über Teegärung“ in Chemiker-Zeitung 1903) behauptet, daß eine bestimmte Hefeart bei diesem Prozesse die einzige Urheberin des angenehmen Aromas ist. Er fand diese Hefeart in allen von ihm untersuchten Teesorten aus China, soweit es sich um guten Tee handelte. In schlechten Teesorten und auch im kaukasischen Tee fehlte dieselbe ganz. Leider hat Waghel die Hefeart nicht näher studiert. Verf. fand nun außer der Hefe stets auch zahlreiche Bakterien aller Art in Teemustern aus China, jedoch auch bei einer schlechten chinesischen Sorte (dem Kulitee). Verf. züchtete diese Mikroorganismen, sechs verschiedene Arten schienen fast die Gesamtzahl aller Kolonien auszumachen. An eine genaue Charakterisierung resp. Identifizierung der Arten ging Verf. mit Absicht nicht ein. War es ihm doch nur darum zu tun, klarzulegen, ob die ganze Fermentation (also auch die Bildung des Aromas) von der Tätigkeit von Mikroorganismen abhänge. Diese Frage mußte verneint werden. Wurde nämlich ein Teil der zu behandelnden frischen Teeblätter sterilisiert, der andere Teil aber mit einem Gemisch von aufgeschwemmten Reinkulturen der sechs Bakterienarten mittels eines feinen Verstäubers geimpft und jeder Teil für sich der gewöhnlichen Teebereitung unterworfen, so sank der ursprüngliche Gerbstoffgehalt (27,4 Proz.) in beiden Fällen auf etwa 10,5 Proz. herab, der Gesamtgehalt an Koffeïn wurde am Ende der Versuche etwa 4,2 Proz. gefunden. Die Fermentation verlief überdies in beiden Fällen normal, es trat die typische rötliche Blätterfärbung auf; das Aroma entwickelte sich gleich.

Verf. experimentierte mit Teeblättern von Pavia. Könnten nun die Mikroorganismen, die auf den chinesischen Blättern leben, nicht eine andere

Wirkung haben? Es zeigte sich, daß mindestens 4 Arten in beiden Fällen identisch sind.

Da der Prozeß der Fermentation kein Oxydationsprozeß ist, so bleibt als einzige Erklärungsmöglichkeit, die Tätigkeit von Enzymen oder Fermenten anzunehmen. Ob ein oder mehrere Fermente wirken, ist noch unklar. Man hat keine Möglichkeit eines zu zerstören, ohne das andere in seiner Wirksamkeit zu beeinträchtigen. Hier muß noch Klarheit erzielt werden. Matouschek (Wien).

Höhnel, Franz von, Mykologisches. XXII. (Österr. botan. Zeitschr. Bd. 59. 1909. p. 62—66; 108—112.)

Der Beitrag gilt der alpinen Makromyceten-Flora. Namentlich in der Umgebung von Vahrn bei Brixen in Südtirol wurde gesammelt. Durch diese Aufzeichnungen und die von Heimerl (in den Verh. der zool. bot. Gesellschaft in Wien) ist die Makromyceten-Flora dieser Gegend sehr gut bekannt. v. Höhnel durchsetzt, wie immer, seine Arbeit mit zahlreichen kritischen Bemerkungen, die sich teils auf schärfere Fassung der Diagnosen, auf Systematik und Synonymik, teils aber auf pflanzengeographische Momente beziehen. Cyphella fasciculata B. et C., eine nordamerikanische Art, wurde auf dürren Zweigen von Alnus viridis gefunden; sie war in Europa nur aus Venetien bekannt. Lactarius spinolususus, bisher nur in Frankreich beobachtet, fand sich auch bei Vahrn vor. —

Verf. spendet großes Lob dem Werke Flora mycologique von Quelet.

Matouschek (Wien).

Schmidt, Ernst Willy, Über den Parasitismus der Pilze. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 19. 1909. p. 129—143.)

Der von Seiten verschiedener Forscher geführte Nachweis, daß chemotaktische Reizwirkungen beim Eindringen saprophytischer Pilze aus dem Nährsubstrat in Aktion treten, gab Veranlassung, die gleiche Eigenschaft auch auf die lebende Wirtspflanze in ihrem Verhältnis zum Parasiten zu übertragen. Verf. setzt sich mit der berechtigten Begründung, daß in der lebenden Zelle die Diffusionsmöglichkeit reizauslösender Stoffe unmöglich ist, in Gegensatz zu dieser Annahme. Der experimentellen Versuchsanstellung liegt zunächst die Frage zugrunde: Kommt Chemotropismus überhaupt bei parasitären Pilzen vor? Während Miyoshi den Nachweis des Chemotropismus durch direkte mikroskopische Untersuchungen erbrachte, wandte Verf. eine makroskopische Methode an. Mittels Zelloidinschläuchen resp. Säckchen und chemotaktisch wirkenden Substanzen wurde ein die physikalischen Eigenschaften der toten Zelle repräsentierendes osmotisches System konstruiert und mit den auf Nährgelatine ausgesäten Pilzsporen eines Parasiten in Berührung gebracht. Die von den ausgekeimten Pilzsporen eingeschlagene Wachstumsrichtung der Reizquelle entgegen erbrachte den Beweis der Existenz des positiven Chemotropismus auch bei parasitären Pilzen.

Als Material zu den Untersuchungen diente eine Phyllosticta spec. Die aus den Sporen hervorgegangenen Keimschläuche entwickelten auf der Oberfläche der Zelloidinsäckchen, die als chemotaktisch wirksame Substanz Pflaumendekokt enthielten, nach wiederholter Durchwachsung der Membran massenhaft Pykniden. Die Entwicklung derselben vollzog sich hier in gleicher Weise wie unter natürlichen Bedingungen auf der Wirtspflanze. Auf entsprechenden Abbildungen ist die Anlage des Stromas, die

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Sprengung der Zelloidinmembran und das Hervorbrechen der Pykniden dargestellt.

Unter natürlichen Verhältnissen muß der parasitäre Pilz durch enzymatische, toxische oder rein mechanische Kräfte zunächst das gesunde Gefüge der Zelle beziehungsweise der Epidermis verändern, um einen Diffusionsstrom freizulegen, dem entgegen als richtender Reiz das weitere Wachstum des Pilzes vor sich geht. Ob diese Anschauung zutrifft, soll der zweite Teil der Arbeit ergeben. Schaffnit (Bromberg).

Shear, C. L., The present treatment of monotypic genera of fungi. (Bull. of Torrey Bot. Club Vol. 36. 1909. p. 147—151.)

Enthält einen nomenklatorischen Vorschlag für den Internationalen Botanikerkongreß in Brüssel 1910. „Für ein Genus, welche nur eine Spezies enthält, soll stets diese Spezies als Typus bestehen bleiben.“ Es ist in der Pilzsystematik häufig vorgekommen, daß zu einem Genus, welches ursprünglich nur eine Art enthielt, mehrere neue gestellt wurden. Später wurde die erste Art zu einer anderen Gattung gebracht und der ursprüngliche Gattungsname für die späteren Arten beibehalten. Verf. führt 8 Beispiele, z. T. aus Saccardo, an, welche dieses nach seiner Ansicht zu verwerfende Verfahren erläutern. Der oben formulierte Satz findet übrigens in der systematischen Zoologie Anwendung. Herter (Montevideo).

Klugkist, C. E., Zur Kenntnis der Schmarotzerpilze Nordwestdeutschlands. (Abhandl. d. naturw. Ver. i. Bremen. Bd. 19. Heft 3. 1908. p. 371—412.)

In diesem Beitrage setzt Verf. die von ihm und H. Klebahn früher publizierten Beiträge zur Pilzflora von Bremen fort. Eine große Zahl von Arten ist für das Gebiet neu, manche gehören zu den seltensten Vorkommen in Deutschland überhaupt, so z. B. Peronospora chrysoplenis Fr., Peronospora conglomerata Fckl., Fabraea Rousseauana S. et B., Plasmopara obdurans Schr. — Die Gattung Septoria ist reich vertreten. Marssonia Potentillae zeigte sich auf kultivierten Erdbeeren. Auf Rhododendrum indicum tritt in den Bremer Gärten ein Exobasidium auf, das vielleicht zu Exobasidium ledi K. gehört. 140 Arten Uredineen sind aus dem Gebiete jetzt bekannt. Am Schlusse der Arbeit ist ein Anhang, in dem die Wirtspflanzen der in Nordwestdeutschland bisher beobachteten Schmarotzerpilze alphabetisch mit den betreffenden Pilzarten angeordnet sind.
Matouschek (Wien).

Gallagher, W. J., Plant life and disease. (Agric. Bull. of the Straits and Federated Malay States. Vol. 7. 1908. p. 9—13.)

Populärer Vortrag. Enthält nichts neues. Herter (Montevideo).

Bainier, G., Mycothèque de l'École de Pharmacie. XXIV, XXV, XXVI, XXVII. (Bull. Soc. Myc. de France. Vol. 24. 1908. p. 73—94. Av. pl. IV—VII.)

Folgende Pilze werden eingehend beschrieben und abgebildet:

Periconia pycnospora **Fresenius,** Dendryphium fumosum **Corda,** Dendryphium toruloides **Fres.,** Dendryphium nodulosum **Sacc.,** Brachycladim ramosum **sp. nov.,** Brachycladium spiciferum **sp. nov.,** Brachycladium spicatum **sp. nov.,** Sterigmatocystis insueta, Harziella Castaneae **sp. nov.,** Stachylidium bicolor **Linck,** Sordaria vestita **Zopf,** Sordaria decipiens **Winter.**

Besonderes Interesse verdient der Parasit Harziella Castaneae. Unter den in Paris verkauften Kastanien (Castanea vesca) fand Verf. häufig solche, die in ihrem Innern völlig schwarz gefärbt waren, ohne daß äußerlich eine Verletzung zu erkennen gewesen war. Nach Sterilisation solcher Kastanien wurde aus der schwarzen Masse auf Nährlösungen das braune Mycel einer Harziella erhalten, welche mit H. capitata (auf Tricholoma nudum lebend) nahe verwandt ist. Sie unterscheidet sich von dieser besonders durch das braune Mycel und die kugeligen Konidien von 3,5 μ Durchmesser. Herter (Montevideo).

Bainier, G., Mycothèque de l'Ecole de Pharmacie. XXVIII et XXIX. (Bull. Soc. Myc. de France. Vol. 24. 1908. pp. 147—155. Av. pl. XV—XVII.)

Verf. berichtigt seine vorjährige Arbeit, in welcher er eine Mucedinee als Cephalomyces nigricans nov. gen. nov. spec. beschrieben hat. Der Pilz gehört zu Cephaliophora und muß Cephaliophora nigricans Bainier heißen. Es folgen einige Bemerkungen über Cephaliophora tropica Thaxter und C. irregularis Thaxter. Diese beiden Arten werden abgebildet. Ferner wird beschrieben Haplographium fuscipes (Preuß) Bainier, eine Dematiee. Auch diese ist abgebildet. Herter (Montevideo).

Saccardo, P. A., Notae mycologicae. Series X. (Ann. Mycologici. 6. 1908. p. 553—569. m. Taf. XXIV.)

Verf. führt 77 neue oder bemerkenswerte Pilze auf. Darunter sind folgende neu beschriebene oder mit kritischen Bemerkungen versehene Parasiten:

Italien: Uromyces apiosporus Hazsl. auf Primula minima; Sphacelotheca Sorghi (Link) Clint. auf Sorghum halepense var. mutica; Sphacelotheca Schweinfurthiana (Thuem.) Sacc. auf Imperata cylindrica; Phyllosticta Paratropiae Sacc. sp. n. auf Paratropia rotundifolia; Phyllosticta Crini Sacc. sp. n. auf Crinum; Asteroma Antholyzae Sacc. sp. n. auf Antholyza bicolor; Placosphaeria punctiformis (Fuck.) C. Mass. et Sacc. auf Galium Mollugo; Ascochyta Sémeles Sacc. sp. n. auf Semele androgyna; Septoria Cirrosae Sacc. sp. n. auf Clematis cirrosa; Septoria Cercidis Fr. auf Cercis Siliquastrum; Septoria myriotheca C. Mass. auf Peucedanum Oreoselinum; Septoria dryophila Sacc. sp. n. auf Quercus Ilex; Gloeosporium Crini Sacc. sp. n. auf Crinum; Gloeosporium Oleandri Sacc. sp. n. auf Nerium Oleander; Gloeosporium anceps Sacc. sp. n. auf Arbutus Unedo; Colletotrichum Metake Sacc. sp. n. auf Arundinaria japonica; *Marsonia Matteiana Sacc. sp. n. auf Quercus Robur; Oidium quercinum Thuem. auf Quercus Robur; Septocylindrium bellocense C. Mass. et Sacc. sp. n. auf Verbascum nigrum.

Frankreich: Didymella sachalinensis Sacc. sp. n. auf Polygonum sachalinense; Charonectria succinea (Rob. et Desm.) Sacc. var. bractearum Sacc. auf Carpinus Betulus; Myxocyclus polycystis (B. et Br.) Sacc. auf Betula alba; Septoria Petroselini Desm. var. Apii Br. et Cav. forma emaculata Sacc. auf Apium graveolens; *Phragmotrichum Flageoletianum Sacc. sp. n. auf Carpinus Betulus; Cylindrosporium septatum Romell forma Helosciadii Sacc. auf Helosciadium nodiflorum; *Myrothecium advena Sacc. sp. n. auf Coffea arabica; Fusicladium Hariotianum Sacc. sp. n. auf Glyceria Borreri.

Deutschland: Chorostate Sydowiana Sacc. sp. n. auf Sorbus aucuparia; Phoma frigida Sacc. sp. n. auf Populus Tremula; *Dothichiza exigua Sacc. sp. n. auf Pinus Strobus; *Discella populina Sacc. sp. n. auf Populus alba var. Bolleana; Myxosporium Tremulae Sacc. et Roum. auf Populus Tremula; *Gloeosporium Vogelianum Sacc. sp. n. auf Corylus Colurna; *Tuberculina microstigma Sacc. sp. n. auf Achillea Millefolium; *Illosporium Diedickeanum Sacc. sp. n. auf Acer Pseudoplatanus; Coniothecium radians Sacc. sp. n. auf Populus Tremula.

Nordamerika: Myxosporium depressum Sacc. sp. n. auf Syringa vulgaris; Cylindrosporium Fairmanianum Sacc. sp. n. auf Spiraea lanceolata.

Mexico: ? Anthostomella Bonanseana Sacc. sp. n. auf Cereus geometrizans; Phoma Bonanseana Sacc. sp. n. ibidem; Fusarium candidulum Sacc. sp. n. ibidem; Dendrodochium verticilloides Sacc. sp. n. auf Cereus.

S. Thomé: Lasiodiplodia Thomasiana Sacc. sp. n. auf Heptapleurum Barteri; Pestalozzia funerea Desm. — Pestalozzia eusora Sacc. subsp. n. ibidem.

Die mit * versehenen Pilze sind auf Tafel XXIV abgebildet.

Herter (Montovideo).

Guéguen, F., Étude sur l'album Pelletier de Guernisac. (Bull. Soc. Mycol. France. Vol. 24. 1908. p. 248—280.)

Die obengenannte Iconographie, bestehend aus 800 Aquarellen, ist wenig bekannt geworden. Sie behandelt Pilze von Finisterre. Da einige Arten noch nicht beschrieben wurden, entwirft Verf. zugehörige Diagnosen.

Matouschek (Wien).

Delacroix, G. et **Maublanc,** — Maladies des plantes cultivées. I. Maladies non parasitaires. — II. Maladies parasitaires. — 2 Bde. 8⁰, 31 + 432 S. mit zahlreichen Abbildungen und Tafeln. Paris (J. B. Baillière et fils) 1908—1909. Preis 5 Fr. pro Bd.

Bislang besaß Frankreich einen guten Grundriß der Pflanzenpathologie, der bis zu den neuesten Errungenschaften der Wissenschaft auf dem laufenden erhalten wäre, noch nicht; das vorliegende Buch ist geeignet, diese Lücke auszufüllen.

Der erste Band behandelt die nicht-parasitären Pflanzenkrankheiten. Nach einigen Bemerkungen über die Pflanzenteratologie, bespricht der Verf. das, was man unter nicht-parasitären Krankheiten zu verstehen hat, und beginnt dabei mit den mechanischen Verletzungen: Die Wunden und ihre Vernarbung, die Bildung von Gummi in den verletzten Geweben und die Gummikrankheit der Mandelbäume.

Dann geht der Verf. auf die durch meteorische Einflüsse hervorgerufenen Veränderungen über: Kälte, Frost, Wärme, Trockenheit, Feuchtigkeit; dann folgt die Wirkung des Lichts, des Blitzes und endlich verschiedener toxischer Agentien, insbesondere der Gase und Dämpfe, welche gewisse Fabrikbetriebe in die umliegenden Pflanzenbestände ausströmen lassen und die infolge ihrer schädlichen Wirkungen schon oft zu gerichtlichen Verhandlungen geführt haben.

Weiterhin finden sich die Krankheiten, deren Ursachen unbekannt oder verschiedenartig sind: Chlorose, Grünfärbung, Schwund, Bräune, Anschwellungen usw.

Das wichtige Kapitel, das den ersten Band beschließt und gewissermaßen bereits einen Teil des zweiten bildet, behandelt in ausführlicher und klarer Weise die Fragen der pflanzlichen Immunität und der Ursachen des Parasitismus. Eine Kenntnis dieser Verhältnisse führt in möglichst wissenschaftlicher Weise zu einem Studium der Frage, die eigentlich das praktische Ziel der Pathologie ist, zu der Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten.

In diesem Zusammenhang geht der Verf. auf die Arbeiten von E. Laurent, G. Massee, Miyoshi ein, die höchst ermutigend sind. Nicht allein, daß man die Prädisposition zu gewissen Krankheiten durch kulturelle Vorsichtsmaßregeln und durch Auswahl von Spielarten, die als besonders widerstandsfähig bekannt sind, mindern kann, lassen auch die angestellten Versuche den Augenblick erkennen, in dem man die Immunität ganz direkt dadurch steigern kann, daß man in der Pflanze Verhältnisse erzeugt, die auf den parasitierenden Pilz negativ chemotaktisch wirken. Dies kann man erreichen durch Absorption oder durch Impfung; dabei verwendet man entweder einfache Lösungen oder Saft von Pflanzen, welche eine natürliche Immunität besitzen (Serumtherapie). Man hat auch versucht, für den Parasiten giftige Stoffe (Kupfersulfat in entsprechender Verdünnung) in wirksamen Mengen einzuführen; schließlich könnte man auch versuchen, eine Impfung mit einer abgeschwächten Kultur des Parasiten vorzunehmen.

Die französischen Autoren, unter ihnen Sorauer am Ende des zweiten Bandes der zweiten Auflage seines vorzüglichen Werkes, legen auf diese Fragen der Immunitätslehre großes Gewicht und weisen durch ihre Arbeiten der Pflanzenpathologie ganz neue und sehr aussichtsreiche Wege.

Im zweiten Bande behandeln die Verff. die durch Bakterien, Pilze, und Phanerogamen verursachten Krankheiten im einzelnen. Die Reihenfolge entspricht der botanischen Klassifizierung der Parasiten.

J. Beauverie (Lyon).

Familler, Jg., Über Störungen im Pflanzenleben. (Berichte d. naturwissenschaftl. Vereins zu Regensburg. Heft 11. 1905—1906. Regensburg 1908. p. 78—107. m. 1 Taf.)

Es werden in leicht faßlicher Weise behandelt:

1) Die krankhaften Erscheinungen der Pflanzen aus inneren Gründen,

2) die Erkrankungen, hervorgerufen durch mechanische oder chemische Störungen von außen.

Zu den ersteren werden solche gezählt, die auf Wasser- und Nährstoffmangel oder -Überfluß und auf einem Zuviel oder Zuwenig der Luftwärme und des Lichtes beruhen.

Das Welken der Pflanzen, die Früh- oder Notreife des Obstes, das Absterben junger Baumpflanzungen, das Verholzen von Rettich, Karotten usw., das Kränkeln der Bäume infolge des Zutiefsetzens der Stämme, Geilstellen in Wiesen und Getreidefeldern, Wasserreiser; das Aufspringen vieler Wurzelfrüchte, das Abwerfen von Blütenknospen und die vorzeitige Samenbildung zweijähriger Pflanzen (hervorgebracht durch ein plötzliches Übermaß von Wasser auf eine Durstperiode hin); Abfaulen der Blütenknospen feinerer Rosen, Blütenschießen mehrjähriger Pflanzen (Folgen rascher Wasserzufuhr); schlechte Obstreife in nassen Jahren, Erfrieren, Kältestarre, Frostspalten, Frostbrand, Überlichtung, Lichtmangel.

In der zweiten Gruppe beschreibt Verf.

die Wirkung des Windes auf Bäume (mit Abbildungen), Blitzschlag (Flächenblitze), durch den Menschen hervorgebrachte Wunden z. B. beim Einschneiden von Namen in die Rinde und bei der Gewinnung von Pech; Einflüsse von Hüttenrauch, der Natrondämpfe bei der Erzeugung von Zellulose, von Chlor, Leuchtgas usw.

Die Beispiele nimmt Verf. aus der eigenen Praxis und aus der Umgebung von Regensburg. Matouschek (Wien).

Torrend, C., Catalogue raisonné des Myxomycètes du Portugal. (Bull. de la Soc. Portugaise des Sc. Nat. T. 2. Lisbonne 1908. p. 55—73.)

Verf. zählt 97 Arten auf; als neu werden beschrieben:

Cribraria piriformis Schrad. var. maxima Torrend nov. var., Liceopsis lobata (List.) Torrend nov. gen., Physarella oblonga (Berk. et Curt.) Morg. var. lusitanica Torrend nov. var., Badhamia capsulifera (Bull.) Berk. var. libera Torrend nov. var.

Ohne Beschreibung werden im Anhang als vorläufige Mitteilung erwähnt:

Lycogala Torrendii Bres. nov. spec., Arcyria annulifera Lister et Torrend nov. spec.

Herter (Montevideo).

Torrend, C., Flore générale des Myxomycètes. Grand-8°. Lisbonne 1909.

Verf. gibt die in der Broteria (Serie Botanica) Vol. 6 (1907), 7 (1908), 8 (1909) erschienene Myxomycetenflora separat heraus. Das Werkchen enthält 270 Seiten Text, 9 Tafeln und über 270 Figuren. Leider ist die Auflage eine sehr geringe (kaum 200). Herter (Montevideo).

Beardslee, H. C., Three rare Myxomycetes. (Torreya. Vol. 8. 1908. p. 253—255.)

Verf. fand Cribraria violacea Rex in Havana, Illinois, Clastoderma De Baryanum Blytt ebendort und Cribraria minutissima Schw. bei Asheville, North Carolina. Die Fundorte werden genau beschrieben. Herter (Montevideo).

Seaver, F. J., North Dakota slime-moulds. (Bull. Torr. Bot. Club. Vol. 35. 1908. p. 577—580.)

In North Dakota fanden sich folgende Myxomyceten:

Cienkowskia reticulata (Alb. et Schw.) Rost., Diderma crustaceum Peck, Didymium squamulosum (Alb. et Schw.) Fries, Fuligo ovata (Schaeff.) Macbr., Physarum contextum Pers., Tilmadoche viridis (Bull.) Sacc., Stemonitis maxima Schw., Stemonitis Smithii Macbr., Dictydiaethalium plumbeum (Schum.) Rost. Dictydium cancellatum (Batsch) Macbr., Tubifera ferruginosa (Batsch) Macbr., Lycogala epidendrum (Bux.) Fries, Arcyria incarnata Pers., Arcyria denudata (L.) Sheld, Hemitrichia clavata (Pers.) Rost., Hemitrichia vesparia (Batsch) Macbr., Trichia persimilis Karst., Oligonema flavidum (Peck) Massee.

Herter (Montevideo).

Jahn, E., Myxomycetenstudien. 7. Ceratiomyxa. (Ber. d. Deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. 26a. 1908. p. 342—352.)

Um über die Frage der Kernverhältnisse bei der Sporenbildung bei Ceratiomyxa sich zu orientieren, untersucht Verf. zahlreiche Schnittserien dieses Schleimpilzes. In der Entwicklung der Fruchtkörper dieser Gattung unterscheidet er fünf Stadien: 1) ein Polsterstadium, 2) ein Streckungsstadium, 3) das Maschenstadium, 4) das Pflasterstadium und 5) das Sporenstadium.

Den Anfang der Fruktifikation bildet die Kopulation zweier Kerne. In den haploiden Kernen findet man stets 8 Chromosome. Nach der Karyogamie zählt man deren 16. Auf die Kopulation folgt die Streckung der Kerne zu ellipsoider Gestalt. Auch in diesem Stadium sind 16 Chromosome nachweisbar, später werden sie aber undeutlich. Im folgenden Maschenstadium sind die Chromosome wieder deutlich, aber man sieht nur noch 8. Hierauf folgt die Reduktionskaryokinese. Die gebildeten Tochterkerne, von denen fast die Hälfte später degenerieren, haben je 8 Chromosome. Im Pflasterstadium umzieht ein Plasmaklumpen je einen Kern. Nach der Stielbildung der Sporen geht der Kern in ein Ruhestadium über, wobei die Chromosomen wieder

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

undeutlich werden. Es folgen dann zwei mitotische Kernteilungen rasch hintereinander. Aus den keimenden Sporen schlüpft eine 4kernige Amöbe heraus, welche sich gleich in 4 Tochterkerne teilt, die alle ebenfalls 8 Chromosome aufweisen. Es findet also hier keine Reduktion statt.

Entgegen anderen Behauptungen von Olive stellt Verf. also fest, daß kurz vor der Sporenbildung nur eine Karyokinese stattfindet und zwar, wie bei den übrigen Myxomyceten, eine deutliche Reduktionsteilung,

K Müller (Augustenberg).

Lendner, Alfred, Les Mucorinées de la Suisse. (Matériaux pour la flore cryptogamique Suisse. Vol. 3. Fasc. 1.) 182 pp. 3 tab. 59 Fig. (Bern K. J. Wyß) 1908.

Da die Mucorineen-Arten weit verbreitet sind und gelegentlich in Gegenden auftreten, die weit entfernt von ihrem ursprünglichen Fundorte liegen, so traf Verf. wohl das Richtige, wenn er in seiner Arbeit weit über diejenigen Arten ging, welche tatsächlich in der Schweiz gefunden wurden. Daher ist die Arbeit nicht nur von lokalem Interesse, sondern wertvoll für jeden, der sich mit der so schwierigen Familie beschäftigt. — In einigen Kapiteln (47 Seiten) behandelt der Verf. das Sammeln dieser Pilze, das Vorkommen auf diversen Substraten, die Kulturmethoden, die Sporenkeimfähigkeit, die Morphologie (vegetative und Reproduktionsorgane, Zygosporenbildung, Sexualität). Hierbei wird die im Anhange angeführte reichhaltige Literatur (232 Nummern) verwertet. — Im systematischen Teil interessiert uns vor allem die Gliederung der Familie. Es ist wohl nötig, sie hier ausführlich mitzuteilen:

A. **Sporangiophorae.** Ungeschlechtliche Fortpflanzung durch Sporen, die in Sporangien entstehen.

I. Mucoraceae. Sporangien kugel- oder birnförmig mit leicht zerstörbarer Membran; Zygosporen nackt oder nur von lockerem Fadengeflecht eingehüllt. Gattungen: Mucor [Monomucor mit 10 Arten, Racemomucor (20), Cymomucor (21)], Circinella (7), Phycomyces (2), Sporodinia (1), Rhizopus (22), Absidia (17), Pirella, Spinellus.

II. Thamnidiaceae: Sporangien wie oben, aber von zweierlei Art, nämlich vielsporige mit zerfließender Membran und Kolumella, sowie wenigsporige (Sporangiolen) mit derber Membran, meist ohne Kolumella und abfallend. Gattungen: Thamnidium (1), Dicranophora, Helicostylum, Actinomucor, Chaetostylum (1).

III. Pilobolaceae. Sporangien nur von einer Art, vielsporig, mit derber, dunkler oder nur an der Basis aufquellender Membran. Sie quellen von den Trägern ab, ohne daß die Kolumella mitgeht, oder sie werden mit der Kolumella geschlossen abgeschleudert und öffnen sich erst später. Gattungen: Pilobolus (6), Pilairia.

IV. Mortierellaceae. Sporangien ohne Kolumella, mit zerfließender Membran; Zygosporen in ein Gehäuse namens Carposporium eingeschlossen. Gattungen: Mortierella (5), Herpocladiella.

B. **Conidiophorae.** Ungeschlechtliche Fortpflanzung durch Konidien, die entweder einzeln oder in Ketten abgeschnürt werden.

I. Chaetocladiaceae. Konidien entstehen am mittleren geschwollenen Teile der Konidienträger, rund oder eiförmig, stets einzeln. Zygosporen nackt, zwischen zwei geraden Kopulationsästen. Gattungen: Chaetocladium, Choanephora, Cunninghamella (2).

II. Cephalidaceae. Konidien ein- bis mehrzellig, in Ketten, doch stets am Ende der ungeteilten oder verzweigten Träger entstehend. Zygosporen nackt, auf dem Scheitel der zangenförmigen Kopulationsäste. Gattungen: Piptocephalis (1,) Dispira, Syncephalis, Syncephalastrum. Vielleicht gehören hierher auch Spinalia, Dimargaris, Sigmoidiomyces.

Die eingeklammerte Zahl gibt an, wieviele Arten der betreffenden Gattung der Verf. genau (Diagnosen französisch) beschrieben und zumeist abgebildet hat. Die Abbildungen sind sehr gut und instruktiv.

Als **neu** werden angeführt: Mucor lausannensis, genevensis, pirelloides, Jansseni, spinescens, lamprosporus, dimorphosporus; Circinella minor, Absidia spinosa und Cunninghamella elegans.

Man sieht, daß sich der Verf. besonders gerade mit den artenreichen Gattungen Mucor, Rhizopus, Absidia und Circinella beschäftigt hat. —

Das Werk ist klassisch zu nennen und wird dem Forscher, auch dem Mediziner, gute Dienste leisten. Matouschek (Wien).

Mangin, L., Formation normale et formation désordonnée des conidies chez les Aspergillacées. (Compt. Rend. Hebd. d. Sciences, Paris. T. 147. 1908. p. 260—263.)

Je mehr die Temperatur und die Zusammensetzung des Milieu sich dem Optimum nähert, desto konstanter sind die Konidien der Pilze Aspergillus glaucus und Sterigmatocystis nigra in Bezug auf ihre Gestalt. Letztere wird schwächer, wenn die Pilze unter weniger günstigen Bedingungen leben. Matouschek (Wien).

Sartory, A., Caractères biologiques et pouvoir pathogène du Sterigmatocystis insueta Bainier. (Bull. trimestr. de la soc. mycolog. de France. T. 24. 1908. p. 221—229.)

Verf. ergänzt die Diagnose dieser Mucedinee, welche Bainier in obengenanntem Bulletin XXIV, 2, beschrieb, in einigen Punkten. Das Optimum des Wachstums erfolgt auf Möhren, bei + 34° bis + 35° C. befindet sich der Pilz am wohlsten. Er hört auf zu wachsen bei + 38,5° C. — Verf. studierte den Pilz in biologischer Hinsicht auf vielen festen und flüssigen Medien. Uns interessiert besonders folgendes: Im Wärmekasten bei 37° treibt der Pilz auf Möhre, Erdäpfel und Topinambour lebhaft, sehr lange behält er die weiße Farbe; setzt man die Kultur während zweier Tage aber einer Temperatur von 24° aus, so erscheinen die Fortpflanzungsorgane. Auf Gélose bei 37° kultiviert wird der Pilz bald schwefelgelb; stellt man ihn auf 24° zurück, so hat dies den eben geschilderten Effekt auch zur Folge. — Es wird ferner der Einfluß der Bewegung auf das Wachstum und die Entwicklung des Pilzes, ebenso die unterdrückte Schwerkraftswirkung studiert: In beiden Fällen kommt es zu sternartiger Ausbildung des Pilzes, welche Kugeln Platz macht. — Der Pilz macht nicht flüssig Gélose, Gelatine, koaguliertes Eiweiß; er bringt aber die Milch zum Gerinnen und fällt das Kaseïn. — Was die pathogene Natur betrifft, so konnte an Hand der Experimente an Hund, Kaninchen und Meerschweinchen festgestellt werden, daß sich weder bei Einführung des Pilzes in die Venen noch bei solcher unter die Haut irgendeine Pathogenität ergab. Matouschek (Wien).

Seaver, F. J., Notes of North American Hypocreales I. (Mycologia Bd. I. 1909. p. 19—22. m. 1 Taf.)

Verf. beschreibt 3 Parasiten:

Hyponectria Cacti (Ellis et Everh.) Seaver comb. nov. auf Opuntia, Hyponectria dakotensis Seaver sp. nov. auf Ambrosia trifida?, Nectria semenicola Seaver sp. nov. auf Spathyema foetida. Die beiden letztgenannten Pilze werden abgebildet.

Herter (Montevido).

Stewart, F. G., and Hodgkiß, H. E., The Sporotrichum bud rot of carnations and the silver top of june grass. (New York agricultural Exper. Stat. Technical Bull. 1908. p. 83—119. w. 6 plat.)

In Dianthus-Blüten nordamerikanischer Treibhäuser tritt eine Fäule auf, deren Ursache Sporotrichum anthophilum Peck ist. Damit ist Sp. Poae Peck identisch, welches in Gras-Blütenständen auftritt. Die Kulturversuche des Verf. zeigen dies. Vielleicht spielt als Verbreiterin die häufig mitauftretende Milbenart Pediculopis graminum eine Rolle. Matouschek (Wien).

Hennings, P., Exogone Kaiseriana P. Henn. n. g. et n. sp. (Verh. Bot. Ver. Prov. Brandenburg. Bd. 50. 1908. p. 129—131. m. Abbild.)

Der Pilz war in Berlin auf faulenden Kohlstengeln und Kiefernadeln im Kulturglase aufgetreten. Er gehört als neues Genus neben Ruhlandiella zu den Rhizinaceae. Der Fruchtkörper ist 1—2 mm groß, weißlich gelb, fast kugelig, Asci und Paraphysen frei, ohne Gehäuse.
Herter (Montevideo).

Müller, Karl, Über das Auftreten von zwei epidemischen Meltaukrankheiten in Baden. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 19. 1909. p. 143.)

Als Fundorte für den amerikanischen Stachelbeermeltau und den Meltau auf Eichenblättern stellt Verf. mehrere Orte im Großherzogtum Baden fest. Sphaerotheca mors uvae fand sich nachweislich nur auf im vorangegangenen Jahre importierten Sträuchern, während in der Nähe befindliche einheimische Pflanzen nicht befallen wurden.
Schaffnit (Bromberg).

Sheldon, J. L., Notes on Uromyces. (Torreya. Vol. 9. 1909. p. 54—56.)

Verf. fand einen Uromyces auf Sisyrinchium graminoides Bick., welches gewöhnlich in Gemeinschaft von Houstonia caerulea L. und dem darauf lebenden Acidium houstoniatum Schw. vorkommt. Es gelang ihm, durch Inokulationen des Sisyrinchium mit dem Houstoniapilz nachzuweisen, daß das Aecidium und der Uromyces zusammengehören. Der Pilz muß nun U. houstoniatus (Schw.) n. n. oder nach Arthurs System Nigredo houstoniata (Schw.) n. n. heißen. Inokulationen mit dem Aecidium von Houstonia purpurea L. glückten nicht. Bei dieser Gelegenheit macht Verf. darauf aufmerksam, daß die Empfänglichkeit zu verschiedenen Zeiten eine verschiedene ist. Bei Uromyces trifolii (A. et S.) Wint. fand Verf. oft eine Trifoliumart von dem Uromyces infiziert, während gleichzeitig die übrigen Arten rostfrei waren. Schließlich glaubt Verf. durch Infektionsversuche nachgewiesen zu haben, daß die Aecidien mancher Violaarten, die bisher als Puccinia violae (Schum.) D.C. bestimmt worden sind, zu Uromyces andropogonis Tracy auf Andropogon virginicus L. gehören.
Herter (Montevideo).

Olive, E. W., Sexual cell fusions and vegetation nucle divisions in the rusts. (Annales of Botany. Vol. 22. 1908. p. 331—360, mit Tafeln.)

Es werden die cytologischen Verhältnisse bei den Rostpilzen untersucht

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

und es sollen die Widersprüche zwischen den von Blackman und Christman gefundenen Resultaten aufgeklärt werden. Nach der Besprechung der einschlägigen Literatur geht der Verf. auf seine eigenen Ergebnisse ein. Diese bringen neues über die ersten Stadien der Aecidienbildung. Die gezogenen Deduktionen sind schwer verständlich, nur die Abbildungen weisen den Weg zur Klärung. Auf jene näher einzugehen geht nicht an, weil man zu weit ausholen müßte.

Matouschek (Wien).

Raciborski, M., Opisy kilkurdzy Jawy. [Über einige javanische Uredineae] (Bullet. internat. de l'acad. d. scienc. de Cracovie. Cl. 2 . 1909. p. 266—280.)

Neu sind folgende Arten:

Uromyces Thelymitrae Rac. (auf Blättern der Thelymitra javanica, einer Orchidee; Aecidium Thelymitrae Rac. gehört hierher als Äcidialform; von Uromyces citriformis Bab. gänzlich verschieden), Uromyces discoideus (auf der Blattoberseite einer Acacia sp.), Uromyces Payenae Rac. (auf Blättern der Sapotaceae Payena Suringariana Brck. und Payena Junghuniana M.), Puccinia Toddaleae (auf den Blättern der stachligen Riesenliane Toddalea aculeata, vielleicht verwandt mit Puccinia Mitragynes), Puccinia Puspa (auf Acronodia punctata, dazu wahrscheinlich Aecidium Puspa Racib. gehörend), Sphaerophragmium Mucunae (auf Blättern der Mucuna sp.), Endophyllum Dichroae (gemein auf der Saxifragacee Dichroa cyanitis M.; von den übrigen Endophyllum-Arten durch die nicht zerstäubenden Teleutosporen verschieden), Skierka Agallocha (auf Blättern des Mangrovestrauches Excoecaria Agallocha), Hamaspora gedeana (auf Blättern des Rubus alpestris), Aecidium Elaeocarpi (auf Blättern und Zweigen des Elaeocarpus longifolius Bl.), Aecidium Paramignyae (auf Blättern der Paramignya Blumei H.), Caeoma Anthurii Har. var. nova Alocasiae (auf Blättern der Alocasia metallica; Sporen kleiner als bei der in Frankreich gefundenen Normalform), Uredo Chonemorphae (auf Apocynea Ichnocarpus bantamensis), Uredo Vitexi (auf der Blattunterseite von Vitex leucoxylon), Uredo pedicellata (gemein auf Commelina sp.), Uredo orientalis (auf Blättern des Blechnum orientale; Haustorien recht sonderbar; Keimung der Sporen nicht gelungen). Interessant ist die **neue Uredineen-Gattung Gerwasia.** Sie ist verwandt mit Uromyces und Uromycladium, der Teleutosporenträger ist aber hier wie bei dem Aspergillus der Konidienträger blasig erweitert und mit Sterigmen bedeckt. Die blasige Erweiterung, die bei mehreren Arten von Uromycladium vorhanden ist, jedoch zuletzt entsteht und steril bleibt, ist bei der Gerwasia primär, und ihr Plasma tritt durch die Sterigmen in die Teleutosporen. Die neue Gattung gründet sich auf die Art Gerwasia Rubi auf Blättern von Rubus sp.

Die einzige javanische Uredinee, welche auf die Physiognomie der Landschaft von Einfluß werden kann, ist Uromycladium Tepperianum (Sacc.) Mc. Alpine, da sie auf dickeren Ästen im Laufe der Jahre Gallen von einer Dicke von 15 cm und einer Länge bis 30 cm bildet. — Von anderen bereits bekannten Arten werden ausführlichere Diagnosen entworfen.

Matouschek (Wien).

Tranzschel, W., Kulturversuche mit Uredineen im Jahre 1908. Vorläufige Mitteilung. (Annales Mycologici. Vol. 7. 1909. p. 182.)

Durch Aussaat der Teleutosporen der Puccinia Veratri Duby auf Epilobiumarten erhielt Verf. auf E. roseum Pykniden, auf E. nervosum auch Aecidien. Diese Aecidien erzeugten auf Veratrum album wieder Uredo- und Teleutosporen.

Eine Puccinia auf Carex muricata aus der Krim infizierte gleich stark Lactuca sativa, L. muralis und Lampsana communis. Falls das Material nur eine Puccinia-Art beherbergte, könnte man annehmen, daß Puccinia Opizii Bubák auch auf Lampsana überzugehen vermag.

Durch Aussaat der Teleutosporen von Puccinia Sonchi Desm. auf Sonchus arvensis erzielte Verf. Pykniden, denen Uredosporenlager folgten. Aecidien bildet die Art demnach nicht.

Puccinia Allii Rud. und P. Porri Wint. bilden ebenfalls keine Aecidien, da die Aussaat der Teleutosporen die Bildung von Uredolagern zur Folge hatte.

Puccinia Isiacae Wint. lebt in der Aecidiengeneration auf den verschiedensten Wirtspflanzen. Als neue Wirte weist Verf. Thlaspi ceratocarpum, Biscutella sp. und Bupleurum rotundifolium durch Infektion nach.

Eine Puccinia, die sich bei Moskau auf Xanthium strumarium vorfand, ging auf Helianthus annuus über.

Sydow (Schöneberg-Berlin).

Arthur, J. Ch., Die neue Klassifikation der Uredineen und ihre Kritiker. (Ann. Mycologici. T. 6. 1908. pp. 326—330.)

Verf. rechtfertigt sein System der Uredineen, das er dem Wiener Kongreß in der Schrift „Eine auf die Struktur und Entwicklungsgeschichte begründete Klassifikation der Uredineen" unterbreitet hat und welches bisher aufs heftigste angegriffen worden ist. Es sind in diesem System auf Grund des Kodex von Philadelphia, dessen Regeln sich im wesentlichen mit den in der heutigen Systematik geltenden decken, einige wichtige nomenklatorische Veränderungen vorgenommenworden. So ist die Gattung Melampsora in Uredo umgetauft worden. Besonders heftig wurde die Einteilung der Gattungen Uromyces und Puccinia befehdet. Verf. hat zunächst den Unterschied nicht gelten lassen, der darauf beruhte, daß Uromyces einzellige, Puccinia zweizellige Teleutosporen besitzt. Der Unterschied ist keineswegs durchgreifend. Verf. hat nun die hierher gehörigen Arten zu einer Reihe von neuen Gattungen gestellt. So gehört Ravenelia Lysilomae zur Gattung Dendroecia, weil sie nur Aecidien und Teleutosporen bildet. Die Kritiker wiesen nun nach, daß die genannte Art auch Uredosporen bildet, und deshalb im Einklange mit dem neuen System in eine andere Gattung versetzt werden müsse, und sollten in Zukunft Aecidien gefunden werden, so müsse man sie wieder in eine andere Gattung bringen. Dem entgegnet Verf., daß die sogenannten Uredosporen hier nur Spuren einer unterdrückten Sporenform darstellten, die in den Teleutosori aufträten, aber keine unabhängigen Uredosori darstellten und keine Gametosporen enthielten. Er stützt sich auf die Harper-Christman-Oliveschen Untersuchungen und ist der Ansicht, daß die Phasen des Entwicklungsganges bei jeder Art unveränderlich sind. Wenn die Pykniden Gametosporen von Uredoform folgen, so sei es gewiß, daß die Arten keine Aecidien besitzen, z. B. Ravenelia epiphylla, und wenn den Pykniden Teleutosporen folgen, so sei es ebenso gewiß, daß sich nie Aecidien oder Uredosori bildeten, z. B. Dendroecia Lysilomae.

Herter (Montevideo).

Kern, F. D., The existence of Roestelia penicillata and its tetial phase in North America. (Science. New Ser. Vol. 27. 1908. p. 930—931).

Die angeblich in Nordamerika vorkommende Roestelia penicillata ist wohl zumeist R. pyrata (Schw.), welche eine für das Gebiet endemische Art ist. Die erstgenannte Art ist in Nordamerika vom Verf. auch gefunden und ist mit R. fimbriata Arth. identisch. Die zugehörige Teleutosporenform kommt auf Juniperus sibirica (z. B. in Canada und Colorado) vor. Diese Teleutosporenform wird gewöhnlich als Gymnosporangium tremelloides Hart. bezeichnet. Doch bezieht sich nach Verf. der Linnésche Name Tremella juniperina auf diese Pilzform und nicht auf die zu Roestelia cornuta gehörige. Man muß also die Form Gymn. juniperinum nennen.

Matouschek (Wien).

Bubak, F., Über die richtige Benennung von Tilletia belgradensis Magnus. (Annales mycologici. Bd. 6. 1908. p. 570.)

Von Magnus war auf Bromus Secalinus (von Bornmüller bei Belgrad gesammelt) eine neue Ustilaginee als Tilletia belgradensis beschrieben worden.

Verf. führt aus, daß dieser Pilz identisch ist mit der von ihm beschriebenen Tilletia Velenovskyi von Bromus arvensis (Bulgarien). Die Sporen stimmen in allen Merkmalen überein; nur hinsichtlich der Sporengröße besteht ein geringfügiger Unterschied. Gleichwohl hält Verf. an der Identität beider Pilze fest. Außer in Bulgarien und Serbien kommt der Pilz auch in Rußland vor (nach Tranzschel).

Neger (Tharandt).

Theißen, F., Hypoxylon annulatum und sein Formenkreis. (Ann. Mycologici. Bd. 6. 1908. p. 536—538.)

Verf. stellt alle ihm bekannten Hypoxylon-Arten aus Rio Grande do Sul zu 3 Arten: H. effusum Nits, H. annulatum (Schw.) Mont. und H. marginatum (Schw.) Berk. Auch diese 3 Arten seien nur „besonders markante Zustände einer veränderlichen Art“, da alle Übergänge vorhanden seien. (?) Herter (Montevideo).

Pennington, L. H., Mycorhiza-producing Basidiomycetes. (10. Report of the Michigan Acad. of Scienc. 1908. p. 47—49.)

Nach einem kurzen Überblicke über die einschlägige Literatur (Rees, Noack, Woronin, Kauffman) befaßt sich der Verf. mit seinen Untersuchungen, die in den Eichenwäldern von Ann Arbor (Michigan) vorgenommen wurden. Einige Arten von Cortinarius und einige Formen von Russula emetica erzeugen auf dem Wurzeln des Red Oak, Boletus speciosus Frost und Tricholoma transmutans Pk., auf den Wurzeln des Black Oak Mycorhizen.

Matouschek (Wien).

Dufour, L., Note sur la classification des Basidiomycètes. (Rev. gén. Bot. Vol. 20. 1908. p. 417—429.)

In der Geschichte der Systematik der Basidiomycetes lassen sich 3 Perioden unterscheiden.

1) Das Friessche System, gegründet auf äußere Form und Sporenfarbe. Aus jener Periode stammt die Unterscheidung der 6 Familien Agaricaceae, Polyporaceae, Hydnaceae, Thelephoraceae, Clavariaceae, Tremellinaceae nach der Oberflächengestalt des Hymeniums. Die Agaricaceae gliedert Fries in Untergattungen, bei Agaricus unterscheidet er 5 Sektionen:

A. mit weißen, roten, braunen, violetten und schwarzen Sporen.

2) Mikroskopische Studien führen zur Gliederung in Protobasi-

diomycetes mit geteilten Basidien und Autobasidiomycetes mit ungeteilten Basidien.

3) Cytologische Untersuchungen ergeben neue Prinzipien zur Einteilung der Basidiomycetes. Juel will die Stellung der Kernspindel in der Basidie als Einteilungsprinzip verwerten. Nach Maire variiert diese bei den Canthareliaceae. Verf. schlägt 3 Hauptgruppen vor: Cantharellinées (Clavaria, Thelephora, Hydnum, Craterellus, Cantharellus); Polyporinées (durch Cyphella und Dictyolus an die vorige Gruppe anschließend); Agaricineae (inkl. Boletus). Unter den Gasteromycetes schließt sich Verf. der Einteilung Schroeters in Plectobasidiineae und Gastromycetineae an. Herter (Montevideo).

Atkinson, G. F., Observations on Polyporus lucidus Leys. and some of its allies from Europe and North America. (Bot. Gazette. Vol. 46. 1908. p. 321—338. m. 5 Fig. and plate XIX.)

Der typische Polyporus lucidus, der nach den Nomenklaturregeln Ganoderma pseudoboletum (Jacq.) Murrill zu heißen hat, kommt an Stämmen und Wurzeln der verschiedensten Laub- und Nadelhölzer nur in Europa vor. Verf. unterscheidet außerdem 2 Varietäten: Tsugae (Murrill) Atkinson an Tsuga canadensis in Nordamerika und montanum Atkinson im Jura. Die nächst verwandten Arten sind: Ganoderma Curtisii (Berk.) Murrill, G. oregonense Murrill und G. subperforatum Atkinson n. sp., sämtlich in Nordamerika. Die Arten werden beschrieben und abgebildet, auf der Tafel sind die Sporen mikrophotographisch dargestellt.

Herter (Montevideo).

Guéguen, F., Observations diverses sur le Lepiota lutea (Bolt) Quél. et description du Lepiota Boudieri n. sp. (Bull. Soc. mycolog. de France. Vol. 24. 1908. p. 121—132.)

In Gewächshäusern leben 3 Arten von Lepiota: L. cepaestipes, L. lutea und L. Boudieri. Ihre Unterscheidungsmerkmale gibt Verf. an. Die neue Art L. Boudieri ähnelt habituell einer krankhaften L. lutea, doch ist der mikroskopische Bau verschieden.

Matouschek (Wien).

Klebahn, H., Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. VI. VII. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 18. 1908. p. 129—154, m. Taf. IV —VI.)

Auf Blättern von Prunus Padus L. fand Verf. im Herbst 1905 Asteroma Padi D.C. und überwinterte es im Freien. Im Frühjahr 1906 erschien auf mehreren der Blätter eine Gnomonia. Von dieser ausgehend wurden Infektionsversuche angestellt und so bewiesen, daß die Asteroma die Konidienform einer Gnomonia ist. Verf. gibt eingehende Beschreibungen der Konidien-, sowie der Ascosporenform, und schildert die Infektionsversuche und die Reinkulturen aus Ascosporen und aus Konidien. Von Jaap war bereits auf Asteroma Padi-Flecken ein Ascomycet gefunden und als Ophiognomonia Padi beschrieben worden. Er, wie schon 1832 Frl. Libert, die den Pilz als Sphaeria padicola beschrieb, vermuteten bereits die Zusammengehörigkeit beider

Formen. Verf. nennt den Pilz Gnomonia padicola (Libert) Klebahn nov. comb. — Hierzu Tafel IV und V.

Auf Alnus glutinosa Gaertn. findet sich häufig ein Fungus imperfectus, der als Leptothyrium alneum, oft auch als Gloeosporium cylindrospermum, Melasmia alnea, Discosia alnea usw. bezeichnet wird. Der erstgenannte Name ist der giltige. Es war bereits vermutet worden, daß der Pilz zu Gnomonia tubiformis (Tode) Auersw. gehöre. Verf. weist experimentell die Zusammengehörigkeit beider Pilze nach, indem er aus Ascosporen das Konidienstadium erzeugt. Die genauere Untersuchung ergibt, daß der Pilz als Gnomoniella tubiformis (Tode) Klebahn nov. comb. zu bezeichnen ist. Reinkulturen konnten nicht hergestellt werden. — Der Pilz ist auf Tafel VI abgebildet.

Schon früher war die Zugehörigkeit des Gloeosporium nervisequum zu Gnomonia Veneta und der Marssonia Juglandis zu Gnomonia leptostyla bewiesen worden. Als weiteres Beispiel nennt Verf. Gloeosporium quercinum, über dessen Identität mit einer Gnomonia später berichtet werden soll. Verf. warnt davor, nun anzunehmen, daß alle Gloeosporien zu Gnomonien gehörten. Konidienformen wie Gloeosporium Ribis gehören zu einem anderen Typus, Gnomonia erythrostoma, und andere bilden kein Gloeosporium, sondern spermogonienartige flaschenförmige Pykniden mit dünnen fadenförmigen Konidien, andere Arten bilden vielleicht überhaupt keine Konidien. Es wäre also verfrüht zu verallgemeinern.

Herter (Montevideo).

Anonymus, A Coconut Palm root disease. (The Tropical Agriculturist, Ceylon. Vol.. 30. 1908. p. 19—24.)

Verf. berichtet — in Anlehnung an einen Aufsatz im Bull. of the Department of Agriculture Jamaica 1907. p. 114—122 — über eine recht gefährliche Krankheit der Kokospalme in Trinidad. Die Erkrankung macht sich zuerst daran bemerkbar, daß die Blätter gelb werden, schlaff herabhängen und abfallen. Gleichzeitig ist das Holz stellenweise rot gefärbt. Hier wie besonders in den Wurzeln und im Blattstiel findet sich reichlich Pilzmycel. In allen Fällen zeigte die Epidermis der Blattstiele eine große Anzahl von kleinen Rißstellen. Sie war hier schwarz gefärbt, abgestorben und an dieser Stelle war das Blatt abgebrochen. Verf. vermutet, daß der Schädling hier in die Pflanzen eindringt. Außerdem wurden auch im Boden zwischen den erkrankten Bäumen Mycel gefunden. Die Untersuchung der angetroffenen Sporen durch Patouillard ergab zwei Pilze: Fusicoccum und Botryodiplodia; der letztere ist vermutlich als Schädling anzusehen.

Nach Ansicht der Pflanzer tritt die Krankheit nur an solchen Palmen auf, welche aus unreifen Nüssen hervorgegangen sind. Verf. hält es jedoch für unwahrscheinlich, daß in so ausgedehnten Gebieten wie Cocorite, Laventille, Guapo, Cedros und im Innern von Mayaro, wo die Krankheit besonders heftig auftritt, gerade unreife Nüsse gepflanzt sein sollten. Wohl aber wären klimatische Faktoren von Bedeutung: sowohl große Feuchtigkeit, als auch große Trockenheit beförderten die Entwicklung des Schädlings.

Die Verbreitung des Pilzes geht nach Ansicht des Verf. in folgender Weise vor sich:

1) Durch das Mycel im Boden von Wurzel zu Wurzel,
2) Durch Sporen von Stamm zu Stamm,

3) Durch Sporen von den herabgefallenen Blättern, durch welche die Wurzeln infiziert werden,

4) Durch Chlamydosporen.

Der Schaden ist beträchtlich; besonders im Distrikt Cedros ist die Krankheit sehr verheerend aufgetreten und droht die ganze Kokoskultur in Frage zu stellen.

Zur Bekämpfung werden die üblichen Ratschläge erteilt: Vernichtung aller erkrankten Palmen, Isolation der Krankheitsheerde, Innehalten mit der Neubeflanzung infizierter Gelände, Anwendung von Chemikalien, sorgfältige Kultur und Drainage und Züchtung resistenter Varietäten.

Herter (Montevideo).

Anonymus, Coconut stem bleeding disease. (The Tropical Agriculturist, Ceylon. Vol. 30. 1908. p. 197.)

Auf die Nachricht von einer gefährlichen Krankheit der Kokospalmen hat die Regierung — in Anerkennung der wirtschaftlichen Bedeutung der Kultur dieses Baumes für Ceylon — die strengsten Bekämpfungsmaßregeln getroffen. Verf. hält alles für blinden Lärm. Die Krankheit sei identisch mit dem sog. „Cacao Canker", welcher als völlig ungefährlich anzusehen sei. Näheres über die Krankheit wird nicht angegeben.

Herter (Montevideo).

Stockdale, F. A., Root disease of sugar-cane. (West-Indian Bull. Vol. 9. 1908. No. 2. p. 103—116.)

Marasmius Sacchari Wakk. befällt nicht nur in Japan, sondern auch in Westindien die Wurzeln von Saccharum. Der Pilz ist Saprophyt, aber auch fakultativer Parasit. Bekämpfungsmittel werden angegeben. Matouschek (Wien).

Vosseler, J., Eine Bohrraupe an Zwiebelgewächsen. (Der Pflanzer. Bd. 4. 1908. p. 182—185.)

Die Raupe der Eule Glottula pankratii (Cyr.) richtet im tropischen und extratropischen Afrika an den verschiedensten Liliaceen großen Schaden an. In Amani (Deutsch-Ostafrika) wurde besonders Crinum und Haemanthus, aber auch alle kultivierten Zwiebelgewächse Gladiolen, Narzissen, Clivea, jedoch nicht Allium von ihr gefressen. Verf. gibt eine genaue Beschreibung des Schädlings und seines Lebens. Zur Bekämpfung ist Absuchen der zunächst zwischen Ober- und Unterhaut der Blätter minierenden, später in die Zwiebeln eindringenden Raupen notwendig.

Herter (Montevideo).

Ridley, H. N., A disease of cloves. (Agric. Bull. of the Straits and Feterated Malay States. Vol. 7. 1908. p. 263—264.)

Die Kultur des Gewürznelkenbaums (clove tree) ist etwa gleichzeitig mit der des Muskatnußbaums ums Jahr 1860 aufgegeben worden, als die Anpflanzung des letzteren durch eine Pilzkrankheit zugrunde gerichtet worden waren. Welches diese Krankheit gewesen, und ob der Gewürznelkenbaum von demselben Parasiten befallen worden ist, konnte Verf. nicht feststellen. Er vermutet jedoch, in einer Peronospora den Schädling wiedergefunden zu haben. Im Botanischen Garten zu Singapore und an anderen Orten sah er dieselbe die Blätter des Gewürznelkenbaumes vernichten. 12 Fuß hohe Bäume erlagen dem Angriff des Pilzes. Bespritzungen mit Bordeauxbrühe hatten die besten Erfolge. Herter (Montevideo).

Kern, F. D., The rust of timothy. (Torreya. Vol. 9. 1909. p. 3—5.)

Der Rost des Timothygrases (Phleum pratense) ist in Nordamerika bisher selten gefunden worden. Nur in New York scheint er gemein zu sein. Von Eriksson und Henning wurde der Pilz als Puccinia Phlei-pratensis von P. graminis unterschieden. Der Hauptunterschied war der, daß P. Phlei-pratensis nur in einem Falle auf Berberis Äcidien hervorrief, alle übrigen Versuche hatten negative Resultate. Verf. erhielt bei seinen Inokulationen ebenfalls nur negative Ergebnisse, glaubt aber, daß das eine positive Resultat dazu berechtige, den Pilz zu P. graminis — die er P. poculiformis nennt — zu stellen. Herter (Montevideo).

Appel, O. und **Riehm,** Untersuchungen über den Flugbrand des Getreides. (Mitt. aus der k. Biol. Anst. Heft 8. 1909. p. 9.)

Die Verff. stellten Versuche an über den Einfluß der Saatzeit auf das Auftreten des Haferflugbrandes. Im Abstand von einer Woche wurden von Ende März bis Anfang Juni Aussaaten vorgenommen und während dieser Zeit die Bodentemperatur täglich gemessen. Während der Brandbefall bei der ersten Aussaat 10 Proz. betrug — die Bestimmung des Brandbefalls wurde durch genaue Zählung der gesunden und kranken Ähren vorgenommen — stieg er mit wachsender Bodentemperatur bis zu 25 Proz. Dieser Höchstbefall trat bei einer Bodentemperatur von 7° (Minimum) bis 20° (Maximum) auf der am 30. April gesäten Parzelle auf. Die bei noch höheren Temperaturen gesäten Parzellen zeigten wieder eine Abnahme des Brandbefalls bis zu 1,6 Proz.

Beizversuche mit Kreolin, Kresulfol und Kresolseifenlösung zeigten, daß das letztgenannte Mittel zur Bekämpfung des Haferflugbrandes geeignet ist; durch eine 10 Minuten währende Einwirkung einer einprozentigen Kresolseifenlösung wurde der Haferflugbrand völlig vernichtet, ohne daß die Keimfähigkeit des Saatgutes dabei gelitten hätte.

Die schon im Jahre 1907 eingeleiteten Versuche zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes nach der Jensenschen Methode wurden fortgesetzt. Das Saatgut wurde in kaltem Wasser vorgequellt und dann 10 Minuten mit heißem Wasser behandelt. Es ergab sich nach zweistündigem Vorquellen und Anwendung von 48°—50° ein Rückgang des Brandbefalls von 29,5 Proz. (unbehandelt) auf 17 Proz., nach dreistündigem Vorquellen auf 4,3 Proz. und nach vierstündigem Vorquellen auf 1,7 Proz. Bei Anwendung von 54° bis 56° ging der Brandbefall bis auf 0,1 Proz. zurück; doch wurde bei dieser Behandlung die Keimfähigkeit stark beeinträchtigt.

Da für die Praxis das Trocknen des nassen Getreides Schwierigkeiten macht, wurde das Verfahren modifiziert und das vorgequellte Getreide nicht mit heißem Wasser, sondern mit dem Trockenapparat behandelt. Diese Methode, die guten Erfolg zu versprechen scheint, muß noch durch weitere Versuche erprobt werden. Riehm (Groß-Lichterfelde).

Anonymus, Fungus inside a bamboo. (Agric. Bull. of the Straits and Federated Malay States. Vol. 7. 1908. p. 230.)

Polystictus occidentalis Klotzsch wurde an völlig abgeschnittenen sowie an eingeschnittenen Bambusstämmen in Singapore beobachtet. Herter (Montevideo).

Molliard, M., Une nouvelle Plasmodiophorée, parasite du Triglochin palustre. (Bull. de la Soc. Bot. de France. Vol. 56. 1909. p. 23—25.)

Auf salzigen Wiesen in der Gegend von Saint-Nectaire (Puy-de-Dôme) fand Verf. die Inflorescenzen von Triglochin palustre durch Gallen deformiert. Ursache war ein Pilz, verwandt mit der Kohlhernie (Plasmodiophora Brassicae). Verf. nennt ihn Tetramyxa Triglochinis. Von T. parasitica unterscheidet er sich dadurch, daß die Sporen nicht zu Tetraden vereint bleiben. Er gleicht hierin der Plasmodiophora, doch sind die Dimensionen der Sporen (4,5 × 3 μ) bedeutender. Die Gallen haben 1—1,5 cm Länge, 2,5 mm Breite und gleichen äußerlich denen des Cystopus candidus. Sämtliche Blütenteile erleiden Modifikationen. Die Veränderungen im Zellgewebe der Wirtspflanze werden genau verfolgt: Alle befallenen Zellen sind stark angeschwollen; es findet keine Sklerenchymbildung mehr statt; die Stärkebildung hört auf, so daß die kranken Teile durch Jod nicht blau gefärbt werden; Kerne und Nucleoli sind vergrößert. Der Parasit fand sich nur im filamentum und im connectivum der Staubblätter. Übrigens lebt auch T. parasitica in salzigen Gewässern (auf Ruppia rostellata).

Herter (Montevideo).

Walker, L. B., A new form of Sphaeropsis on apples. (Nebraska Stat. Rpt. 1907. p. 34.)

Verf. teilt das Auftreten einer neuen Form von Sphaeropsis mit, die sich von S. malorum in der Gestaltung der Sporen, der Gestaltung und Dicke der Pykniden und Abwesenheit eines Ostiolums unterscheidet. Auch ist sie viel gefährlicher als die gewöhnliche Form.

Eichinger (Halle a. S.).

Scott, W. M., and **Rorer, James B.,** Apple blotch, a serious disease of southern orchards. (U. S. Departm. of Agricult. Bur. of Plant Industry. Bull. No. 144. 1909. 28 pp. 6 tab.)

Die von den Verff. unter dem Namen „apple blotch“ bezeichnete Erkrankung der Apfelbäume ist anscheinend oft mit anderen schädlichen Krankheiten verwechselt worden, da bisher nur wenig über dieselbe bekannt geworden ist.

Durch Umfrage konnte festgestellt werden, daß die Krankheit über einen großen Teil der Vereinigten Staaten verbreitet ist; besonders die östliche Hälfte scheint unter ihr zu leiden und hier wieder besonders die südlich gelegenen Staaten.

Die Krankheit tritt in drei Formen auf. An den jungen Früchten bilden sich zunächst sehr kleine, hellbraune Flecke, die an Größe schnell zunehmen und dunkler werden. Die Flecke erreichen schließlich eine Größe von 1—2 cm; die Schale platzt endlich auf. Die befallenen Äpfel sehen unansehnlich aus und sind naturgemäß für den Verkauf nicht geeignet.

Die Fruchtstiele, junge Schößlinge und Äste werden ebenfalls befallen. Hier werden charakteristische Flecke erzeugt; die Rinde platzt schließlich auf und es entstehen krebsartige Bildungen. Endlich werden auch die Blätter nicht verschmäht. Die Krankheit erzeugt hier jedoch nur sehr kleine, gelblichbraune Flecke.

Verursacher der Erkrankung ist ein Pilz, den die Verff. mit Phyllosticta solitaria Ell. et Everh. identifizieren. In den Krebsbildungen an den Ästen scheint der Pilz zu überwintern. Im Frühjahre findet daselbst starke Sporenbildung statt und von hier aus geht dann die Infektion der Blätter und Früchte vor sich. Nicht alle Apfelsorten sind dem Pilze gegenüber in gleicher Weise empfänglich; manche werden sehr stark befallen, andere haben nur wenig unter der Krankheit zu leiden.

Auf den gebräuchlichen Kulturmedien, wie Kartoffel, Bohnen, Reis, Kornmehl usw., läßt sich der Pilz leicht züchten, fruchtet jedoch nur selten, obwohl zahlreiche Pykniden gebildet werden; dieselben bleiben jedoch fast stets steril. Nur bei Kulturen auf Holz der Apfelbäume findet reiche Fruktifikation statt.

Es gelang den Verff. leicht, den Pilz durch Aufimpfen auf gesunde Früchte zu übertragen.

Als Bekämpfungsmittel der Krankheit ist Bordeaux-Brühe mit gutem Erfolg angewandt worden. Sydow (Schöneberg-Berlin).

Rorer, J. B., A bacterial disease of the peach. (Mycologia. Vol. 1. 1909. p. 23—27.)

In den Vereinigten Staaten ist eine Pfirsichkrankheit sehr verbreitet, deren Ursache nicht recht bekannt war. Die Blätter sind mit purpurbraunen, wenige mm großen Flecken bedeckt und fallen vorzeitig ab. Es gelang, ein Bacterium zu isolieren und auf den verschiedensten Nährböden zu kultivieren. Durch Infektionsversuche wurde erwiesen, daß dieses Bacterium die Ursache der Krankheit ist. Aus erkrankten Zweigen wurde ein völlig übereinstimmendes Bacterium isoliert. Gelegentlich treten auch auf den Früchten kleinere Flecken, oft 250 auf einem Pfirsich, auf, auch hier wurden Bakterien beobachtet, es konnten aber keine Reinkulturen hergestellt werden. Von Erwin F. Smith war bereits die Vermutung ausgesprochen worden, daß Bacterium pruni die Ursache der Krankheit sei. Verf. konstatiert ebenfalls große Ähnlichkeit im makroskopischen wie im mikroskopischen Bilde beider Krankheiten, sowie der Reinkulturen beider Bakterien. Auch rief eine Infektion der Pfirsichblätter mit Bacterium pruni die Fleckenkrankheit hervor; das umgekehrte Experiment, mit dem Pfirsichbacterium die Pflaumenkrankheit zu erzeugen, steht noch aus. Trotzdem ist bereits heute die Annahme sehr wahrscheinlich, daß Bacterium pruni auch der Urheber der Pfirsichblattfleckenkrankheit ist. Herter (Mondevideo).

Spegazzini, C., Una nueva amenaza para los durazneros. (Crónica Agricola. Vol. 2. 1908. p. 33—40. c. 5 Fig.)

Es werden die pflanzlichen und tierischen Schädlinge des Pfirsichbaumes in Argentinien erläutert. Neu sind: Phoma persicifolia, Rhabdospora persicifila und Protomyces (?) persicifilus. Matouschek (Wien).

Stevens, F. L., und **Hall, J. G.,** Eine neue Feigen-Anthraknose (Colletotrichose). (Zeitschr. f. Pflanzen-Krankheit. 1909. Heft 2. m. 1. Taf.)

Hauptmerkmal der Krankheit ist das Faulen und vorzeitige Abfallen der Früchte. Die Krankheit zeigt sich zuerst, ehe die Früchte zu reifen beginnen, durch meist sehr zahlreiche, kleine faule Flecke auf der Oberfläche der Früchte (5—35 und mehr Flecke auf jeder Feige). Die Flecke sind weich, von wässerigem Aussehen, scharf umrandet, in der Mitte bräunlich und etwas eingesunken. Sie werden rasch größer und in der Mitte eines jeden erscheinen zahlreiche rosa Pusteln von weniger als 1 mm Durchmesser.

Die kranken Feigen sehen nach kurzer Zeit faul aus, werden wässerig, schrumpfen und überziehen sich mit den sporentragenden Pusteln, die in feuchter Luft von einem Geflecht weißer Lufthyphen überzogen und umrandet werden. Auf den Früchten siedeln sich später viel saprophytische, vorherrschend dunkelgrüne und schwarze Pilze an. Die Früchte fallen meist zeitig ab. Oft sind auch die Blätter krank, sie werden braun, schrumpfen am Rande und sterben ab.

Auf den Flecken der Früchte findet sich stets eine Colletotrichum-Spezies. Durch Ausgießen einer Aufschwemmung frischer Sporen auf 4-proz. Erbsen-Agar konnte der Pilz sehr leicht isoliert werden.

Impfversuche mit Sporenmaterial erzeugten die Krankheit sowohl beim Aufreiben der Sporen auf die Oberfläche der Früchte, als auch beim Einführen derselben in durch Ritzen erzeugte Wunden. Sonstige Impfversuche führten zu dem Gesamtergebnis, daß der Pilz in feuchtem Zustande auf der Feige, in natürlichem Zustande sowie sterilisiert mit Leichtigkeit wächst, daß er aber in trockner Luft nicht gut fortkommt. Verff. beobachteten daher die Krankheit auch nur an besonders feuchten Orten und an der Meeresküste.

Zum Schlusse wird noch kurz die Idendität des Pilzes erörtert. Verff. halten es für richtig ihn als neue Spezies von Colletotrichum aufzustellen und schlagen den Namen Colletotrichum Carica n. sp. vor.

Marshall (Halle a. S.)

Laibach, F., Einige bemerkenswerte Erdbeerpilze. (Arbeiten aus der Kais. biolog. Anstalt für Land- und Forstwirtschaft. Bd. 6. 1908. p. 76—80.)

Genaue Beschreibung einiger seltenen Pilzkrankheiten, die durch Marssonia Potentillae (Desm.) Fisch., Leptothyrium macrothecium Fuck. und durch die neue Art Zythia fragariae Laib. hervorgerufen werden.

Matouschek (Wien).

Ewert, Erstes Auftreten der Septoria Azaleae in Schlesien. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Beigabe: Internat. phylopatholog. Dienst. Bd. I. 1908. p. 121.)

Verf. teilt ganz kurz mit, daß Septoria Azaleae im Sommer 1908 an importierten Azaleen aufgetreten ist. Der Pilz ist für Deutschland neu. Eine eingehende Beschreibung wird in Aussicht gestellt.

Herter (Montevideo).

Laubert, R., Über eine Exobasidiumkrankheit der Azaleen und den Mehltau des Apfelbaumes. (Mitt. aus der k. Biol. Anst. Heft 8. 1909. p. 28.)

Verf. fand an Rhododendron indicum eine bisher in Deutschland noch nicht beobachtete Krankheit. Blätter und Blattknospen waren verunstaltet zu dicken fleischigen Gebilden. Die Untersuchung ergab als Erreger ein Exobasidium mit Konidien von 10—12 μ Länge und 1—2 μ Breite. Vermutlich handelt es sich um Ex. japonicum Schir. oder Ex. pentasporium Schir.

Die Perithecien des Apfelmehltaus, die bisher nur einige Male auf Birnbäumen gefunden wurden, beobachtete Verf. auf Apfelbäumen. Sie gleichen denen der Podosphaera leucotricha (Ell. et Ev.) Schn., zu der also auch der hiesige Apfelmehltau zu rechnen ist.

Riehm (Groß-Lichterfelde).

R[idley], H. N., A camphor pest. (Agric. Bull. of the Straits and Federated Malay States. Vol. 7. 1908. p. 394—395.)

Verf. berichtet im Anschluß an „Surcouf, Note sur un parasite du Camphrier en Malaisie" (Journ. d'Agr. trop. Vol. 8. 1908. p. 186.) über einen Schädling der Kamphorbäume. Das Insekt wurde von Heylaerts als Eumeta Hekmeyeri Heyl. bestimmt. Die Raupen leben von den Blättern. Andere Psychodidae haben in Frankreich großen Schaden angerichtet. Es ist also möglich, daß auch Eumeta Hekmeyeri dem Kamphor wie anderen Kulturpflanzen sehr verderblich werden kann. Herter (Montevideo).

Trotter, A., La recente malattia delle Querce. (Bull. Soc. Bot. Italiana. 1908. pp. 115—117.)

Der Meltau fand sich auf Quercus pedunculata, Q. sessiliflora, Q. cerris, Q. ilex. Die befallenen Blätter, besonders die jüngeren, vertrocknen; Stockausschläge werden sehr geschädigt. Schwefeln wird empfohlen, der Meltau wird als Microsphaera quercina Schwein. (= M. extensa Cooke et Peck) angesprochen. Reichliche Literatur ist zitiert. Herter (Montevideo).

Gard, M., Note sur un Oïdium attaquant les feuilles de Chêne. (Compt. rend. Soc. Biol. Bordeaux. T. 65. p. 167—169.)

Zu Ende des Sommers und zu Anfang des Herbstes 1907 trat der Eichenmeltau auf 1- und 2jährigen Eichen in der Dordogne vereinzelt auf. Im Frühjahr 1908 konstatierte Verf. an denselben Stellen sehr starken Befall auf Bäumen jeden Alters. Quercus Toza wird am stärksten angegriffen. Verf. vermutet Eischleppung des Parasiten aus Amerika.

Herter (Montevideo).

Kirchner, O., Das Auftreten des Eichenmeltaues in Württemberg. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- und Landwirtsch. 1909. Heft 4.)

Verf. berichtet über die Resultate, die eine Umfrage bezüglich des Eichenmeltaues ergab. Der Eichenmeltau ist mit Ausnahme der Hochflächen der schwäbischen Alb und deren aus weißem Jura bestehendem Nordhang, wo nur wenig Eichen vorhanden sind, fast in allen Gebieten aufgetreten. Auch in Oberschwaben wurde wenig von der Krankheit beobachtet, in vielen Fällen ihr Fehlen ausdrücklich festgestellt. Die Anfänge des Meltaues wurden in einer Anzahl von Fällen bereits im Mai und im Juni, meistens aber erst später festgestellt, als Hauptverbreitungszeit wird meist der Juli und August festgestellt, die Krankheit dauerte aber auch noch bis in den September. Einige Male wurde im Auftreten eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Meltau der Reben beobachtet, verschiedentlich wurden die Eichen zur gleichen Zeit wie die Reben vom Meltau befallen.

Überall wurden vorzugsweise Stockausschläge und junge Eichen befallen: Sämlinge, verschulte und ins Freie gesetzte Pflanzen. Häufig wird ausdrücklich hervorgehoben, daß an älteren Bäumen kein Meltau vorhanden war.

Ein Versuch, das Auftreten des Pilzes mit den Witterungsverhältnissen in Zusammenhang zu bringen, ergab bei den verschiedenen Angaben keine Übereinstimmung. Jedenfalls wird man annehmen können, daß trocknes, windiges Wetter für die Verbreitung der Sporen und feuchtes Wetter für deren Keimung günstig ist.

Der vom Eichenmeltau verursachte Schaden wird im allgemeinen gering angeschlagen. Jedoch wurde Zurückbleiben der Jahresringe, früheres Absterben der Blätter, ungenügendes Reifen der Triebe bisweilen beobachtet, in einem Falle sogar Absterben der Triebspitzen. Vom Forstamt Gundelsheim wurden schwerere Schädigungen gemeldet: Verkürzung des Haupttriebes und seiner Seitenzweige, Dürrwerden der Spitzen oder Entwicklung ganz schwacher Johannistriebe mit schlecht ausgebildeten Knospen.

Mehrere Forstämter heben ausdrücklich hervor, daß in Württemberg die amerikanische Roteiche (Quercus rubra) in der Regel nicht vom Meltau befallen wurde, selbst in unmittelbarer Nachbarschaft erkrankter Eichen. Nur ein Forstamt meldet ihn an Roteichen, aber auch nur als vereinzelt vorkommend. Marshall (Halle a. S.).

Fischer, Ed., Der Eichen-Meltau. (Sep.-Abdr. Schweiz. Zeitschr. f. Forstwesen. 1909.)

Der Pilz trat im Sommer 1908 auch in der Schweiz sehr heftig auf. Die meisten Beobachtungen beziehen sich auf Quercus pedunculata als Wirtspflanze; doch konstatierte Mayor auch den Befall von Quercus sessiliflora und Quercus pubescens. Trotz sorgfältigen Suchens gelang es bis jetzt nicht, Perithecien aufzufinden, so daß die Bestimmung des Pilzes noch nicht möglich ist.

Verf. schließt sich der Anschauung an, daß es sich eher um Microsphaera quercina als um Phyllactinia corylea handelt, da die Konidien des Eichenmeltaues nicht mit Phyllactinia übereinstimmen. Zudem sendet das Eichenoidium auch keine Mycelzweige durch die Spaltöffnungen der Wirtspflanzen, wie es bei Phyllactinia im Gegensatz zu den übrigen Erysiphaceen der Fall ist.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Ferraris, Teodoro, Osservazioni sulla morfologia dell. Oidio delle Quercie. (Annales mycologici. Vol. 7. p. 62—73. m. 1 Taf.)

Zur Frage der systematischen Stellung des Eichenmeltaupilzes bringt diese Arbeit einen wichtigen Beitrag. Vorausgeschickt werden Angaben über die Zeit des ersten Erscheinens der Krankheit, und ihre gegenwärtige Ausbreitung, über die Wirtspflanzen, auf welchen sie vorkommt (stark auf Q. Cerris, Q. pedunculata, Q. tozza, weniger auf Q. sessiliflora, Q. Ilex, Q. pubescens, Q. palustris, sehr wenig auf Q. coccifera, Q. suber, Q. rubra), über die pathologische Wirkung des Pilzes usw. Als botanische Merkmale des Pilzes werden beschrieben das Mycel (dasselbe bildet höchst eigentümliche gemmenartige, dickwandige Anschwellungen, welche wahrscheinlich als Überwinterungsorgane eine Rolle spielen, und welche bisher bei anderen Erysipheen noch nicht beobachtet worden sind), die Konidien und Konidienträger. Diese Erscheinungen, sowie die Ausbildung der epidermoidalen Haustorien beweisen, daß der Pilz nicht zu Phyllactinia gehört. Ferner wird nachgewiesen, daß er nicht identisch ist mit folgenden auf Eichen bisher beobachteten Erysipheen: Oidium candidium Schw., O. obductum Ell. et Langl., O. japonicum Syd., O. quercinum Thümen. Verf. schlägt daher vor, den Pilz (ad interim bis zur Auffindung der Perithecien) als O. quercinum Th. var. gemmiferum zu bezeichnen.

Sodann werden Vermutungen aufgestellt über die wahrscheinliche Zugehörigkeit zu Microsphaera densissima Peck. oder M. extensa Cook et Peck. (= M. quercina). Den Schluß der Abhandlung bilden Betrachtungen über die Bedingungen der Entwicklung des Pilzes, sowie über die Mittel der Bekämpfung. Verf. schlägt vor, mit der Kultur der widerstandsfähigeren Arten (s. O.) dem Übel zuvorzukommen.

Neger (Tarandt).

Lüstner, Insekten- und Pilzschäden in unseren Eichenwäldern. (Deutsche landw. Presse. Jahrg. 36. 1909. No. 26.)

Enthält spezielle Angaben über das Auftreten des Eichenwicklers Tortrix viridana L. und des noch nicht identifizierten Eichenmeltaupilzes in der Umgebung von Geisenheim und bereits anderseitig gemachte Beobachtungen. Schaffnit (Bromberg).

Isrëal, Wilhelm, Über den Fraß von Tortrix viridana in Ostthüringen in den Jahren 1904—1908. (Ornitholog. Monatsschrift. Jahrg. 34. 1909. p. 241—243.)

Namentlich um Gera schädigte in den letzten Jahren die Raupe von Tortrix viridana stark die Eichen. Über die Lebensgeschichte dieses Insekts und die Charaktereigenschaften hat Verf. ausführlicher in No. 1 der obengenannten Zeitschrift, 1906, berichtet. Durch gründliche Beobachtungen konnte folgendes festgestellt werden:

1) Dem Star muß ein nicht unbedeutendes Verdienst bei der Tortrixvertilgung zugestanden werden.

2) Ichneumoniden spielen zwar auch eine Rolle hierbei. Sonderbarerweise konnte 1906 von Seiten mehrerer Entomologen nie die Ichneumonide Pimpla scanica Grav., die sonst so häufig ist, aus den Raupen gezogen werden. Die Ursache hiervon ist ganz unbekannt.

3) Ratzeburg hat Recht, daß das Auftreten von Tortrix viridana und Teras ferrugana nicht an einen dreijährigen Zyklus gebunden sei, daß also auch ohne größere Unterbrechung an Jahren diese Schädlinge öfter verheerend auftreten können. Matouschek (Wien).

Feytaud, J., Les Chrysomèles de l'osier. (Revue de viticulture. T. 30. 1908. p. 344.)

Die Weidenanpflanzungen der Gironde beanspruchen eine Gesamtfläche von 500 ha. Es werden hier vor allem 2 Arten kultiviert: Salix fragilis und Salix viminalis. Die erstere findet vorwiegend zum Aufbinden der Reben Verwendung.

Unter den zahlreichen Insekten, welche diese Weidenkulturen schädigen, treten besonders zwei Blattkäfer, Lina populi und Phratora vulgatissima seit vier Jahren auffällig hervor. Lina populi skelettiert in erster Linie die Blätter von Salix fragilis, während Phratora sich mit Vorliebe auf Salix viminalis aufhält und ganze Anpflanzungen so zurichtet, daß es den Anschein hat, als wären alle Blätter versengt.

Seit kurzem bekämpft man die beiden Käfer mit Spritzflüssigkeiten. Die vorliegenden Versuche zeigen, daß den arsenhaltigen Mitteln, besonders dem arsensauren Blei, hier nur eine ganz ungenügende Wirkung zukommt. Chlorbaryum, mit welchem gegen andere Insekten schon gute Erfolge erzielt wurden, bewährte sich ebenfalls nicht. Dagegen ergab ein Zusatz von 1 Proz.

Tabaksaft (nicotine titrée) zu Bordeaux- oder Burgunderbrühe ein vorzügliches Resultat. Die Flüssigkeit wird am besten zur Zeit des Auftretens der Larven angewendet; die Blätter müssen auf beiden Blattseiten bespritzt werden. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Stockdale, F. A., Fungus diseases of cacao and sanitation of cacao orchards. (West Indian Bull. 9. 1908. No. 2. p. 166—189.)

Die auf den westindischen Inseln bisher beobachteten Schädlinge der Kakaokulturen sind folgende:

Nectria Bainii Mass., Lasiodiplodia sp., Phytophthora omnivora de Bary, Diplodia cacaoicola P. H. als Fruchtschädiger, ferner eine nicht näher bestimmte Wurzelkrankheit und als Schädiger der Bäume die Arten Nectria Theobromae Mass., Calonectria flavida Mass., Diplodia cacaoicola P. H., Lasiodiplodia sp., Corticium lilaceo-fuscum, Marasmius equicrinus Müll., Exoascus Theobromae R. B.

Die Arbeit geht bei jeder Krankheit ins Detail. Bekämpfungsmittel sind mitgeteilt. Matouschek (Wien).

Anonymus, Una opinion sobre la mancha negra del café. (Bol. de Agricultura, Costa Rica. T. 3. 1909. pp. 145—147.)

Verf. erklärt, daß die berüchtigteKrankheit der Kaffeebäumchen durch Mangel oder Überfluß an Düngemitteln, wenn nicht hervorgerufen, so doch wesentlich gefördert werde. Er bespricht, in welcher Weise zu starke Gaben der einzelnen künstlichen Düngestoffe den Pflanzen schaden. Bei rationeller Düngung seien die Bäumchen kräftig genug, dem Angriff des Pilzes — der von Lavergne in früheren Heften des Bol. de Agricultura beschrieben worden ist — zu widerstehen. Herter (Montevideo).

v. Faber, Einiges über die Hemileia-Krankheit der Kaffeepflanze und die Widerstandsfähigkeit verschiedener Kaffeearten gegen dieselbe. (Tropenpflanzer. Bd. 13. 1909. p. 235.)

Da eine sicher wirkende Bekämpfung der Hemileia noch nicht bekannt ist, hat man versucht, widerstandsfähige Sorten zu züchten. Die Hybriden von Coffea arabica und C. liberia, ebenso wie die von C. mauritiana und C. arabica scheinen etwas widerstandsfähiger zu sein als die Stammpflanze. Von neuen Kaffeesorten sind Abeokuta-Kaffee und C. stenophylla als widerstandsfähigere Sorten zu erwähnen, während C. excelsa und C. robusta, von denen man sehr viel erwartet hatte, sehr unter der Krankheit zu leiden haben. Als verhältnismäßig resistent gelten C. congensis und Uganda-Kaffee.

Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Chapelle, J., et **Ruby, J.,** La teigne ou chenille mineuse de l'olivier. (Revue de viticulture. T. 30. 1908. p. 14.)

In den letzten Jahren machte sich in den Olivenpflanzungen außer der Olivenfliege eine Minierraupe durch ihren Schaden besonders bemerkbar. Die betreffende Motte (Tinea oleaella) tritt jährlich in drei Generationen auf und die Raupen bewohnen nacheinander die Blätter, die Blüten und die Früchte des Olivenbaumes.

Die Raupen der ersten Generation entschlüpfen den Eiern im September oder Oktober und bohren alsbald einen unregelmäßig verlaufenden Gang im Blattparenchym. Im Februar verläßt die nun 2—3 mm lange Minierraupe den Gang durch eine blattunterseits erstellte Öffnung und begibt sich zu den Knospen und richtet an den jungen Blättern durch ihren Fraß weiteren Schaden an. Die Eier der 2. Generation werden im Mai auf die Blütenknospen abgesetzt. Die jungen Räupchen bohren sich in eine Blüte ein und ernähren sich im Innern von den Blütenorganen. Ist eine Blüte ausgehöhlt, so wird eine andere in Angriff genommen und so fort, bis 12 und mehr Blüten von einer einzigen Raupe zerstört sind. Im Juli werden die Eier der 3. Generation auf die jungen Früchte abgesetzt; die Räupchen dringen dann vom Kelch aus ins Innere ein bis in den Kern und höhlen den letzteren gewöhnlich aus. Infolgedessen fallen derart beschädigte Oliven im Laufe des Sommers unreif vom Baume.

Die Bekämpfungsversuche sind noch nicht abgeschlossen; gegenwärtig wird als Spritzflüssigkeit Kupfersulfatlösung + 1 Proz. Tabaksaft verwendet.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Preißecker, Karl, Ein kleiner Beitrag zur Kenntnis des Tabakbaues im Imoskauer Tabakbaugebiete. 4. Fortsetzung. (Fachl. Mitteil. d. k. k. österr. Tabakregie. Wien 1909. p. 1—24. 2 farb. Taf.)

Die 4. Fortsetzung handelt von den Krankheiten unbekannten Wesens und von schädlichen atmosphärischen Einflüssen.

1) Weißfleckenkrankheit. Dieser neue Name für eine alte, mindestens seit Beginn des 19. Jahrhunderts bekannte Krankheit des Tabaks zieht seine Berechtigung aus drei Umständen: a) Die in praxi oder von diversen Forschern bisher dafür gebrauchten Namen (z. B. Roest, weißer Rost, Nielle, Mosaico, Bolla usw.) sind nicht eindeutig und teils für andere Krankheiten vergeben. b) Er trifft das Merkmal genau, durch welches sich diese Krankheit schon äußerlich leicht von der mit ihr so häufig verwechselten Mosaikkrankheit unterscheidet; endlich c) entspricht sie der „Maladie des Taches blanches“, welche Delacroix 1906 einer Krankheit gegeben, deren Identität mit der Weißfleckenkrankheit kaum einem Zweifel unterliegt. — Wie tritt diese Krankheit in Dalmatien, wo das oben genannte Gebiet liegt, auf? Es treten zuerst viele kleine lichte Flecken in gleichmäßiger Verteilung auf dem Blatte auf. Sind sie spärlich gesät, so entwickeln sie sich gewöhnlich zu rundlichen weißglänzenden durchscheinenden Makeln, die von einem ± breiten braunen Rande absterbender Zellen umgeben sind. Sind die Flecken recht zahlreich vorhanden, so fließen sie zu größeren unregelmäßig polygonalen Komplexen zusammen, deren zentraler weißer Teil schließlich brüchig wird und bei Erschütterung herausfällt. Nur die allerjüngsten Blätter sind unversehrt. Es ist nicht nötig anzunehmen, die Krankheit verbreite sich akropetal; die Anlage derselben ist wahrscheinlich schon in einem frühen Stadium im ganzen Stocke vorhanden. Bakterien wurden nicht gefunden. Die Ursache sind wohl Verdauungs- und Transpirationsstörungen, etwa wie bei der von Iwanowski aus Rußland beschriebenen „Pockenkrankheit“; Enzyme werden wohl auch eine Rolle spielen. Von Thripsflecken sind die Weißflecken schwer zu unterscheiden; die Differenzen gegenüber der Mosaikkrankheit werden klargestellt; letztere tritt vor der Ernte nie stark auf und befällt auch nie einen Stock, der an der Weißfleckenkrankheit leidet. Sonderbarerweise tritt letztere dort am stärksten auf, wo

Thrips communis am häufigsten auftritt. Die Krankheit heißt kroatisch mača. Bekämpfungsmittel hat man nicht; als Präventivmittel wird sorgfältige Selektion bei der Samengewinnung anempfohlen, damit eine widerstandsfähige Rasse erzielt werde.

2) Hellfleckigkeit (Panaschierung). In Dalmatien tritt sie folgendermaßen auf: Hellgelblich- oder kremweiße teils hellquitten- oder grünlichgelbe Blattflecken größeren Umfanges mit unregelmäßiger Begrenzung, auch auf der Blattunterseite. Die Grenzen der Flecken werden meist von den Seitennerven 1., 2. oder noch höherer Ordnung gebildet, so daß ungemein reichwinkelige Konturen entstehen. Über die Mittelrippe greift ein Panachureflecken nur in höchst seltenen Fällen und stets nur an der Blattbasis hinüber. Die Flecken erscheinen oft nur auf einer Blatthälfte. Starke Panaschierung verursacht viele Buchtungen des Blattteiles. Die Flecken fallen manchmal heraus oder es trocknet und fällt der anscheinend gesunde Teil des panaschierten Blattes vom Rande und der Spitze aus ab, wobei die Flecken intakt bleiben. Hellfleckige Stöcke verwende man nie zur Samenauswahl. Direkte Bekämpfungsmittel unbekannt.

3) Schmalblättrigkeit (Schwertblatt, Schurgal, Polyphyllie). In Dalmatien tritt diese Krankheit nie in Verbindung mit Mosaikkrankheit auf; die Schwertblattpflanzen zeigen auch nie basale Verzweigung. Die Pflanzer behaupten, daß an halbentwickelten Schwertblattpflanzen, sobald sie in einen anderen Boden versetzt werden, die alten schmalen Blätter absterben, während die neu sich entwickelnden die gewöhnliche Form und Größe erlangen.

4) Faltenzwerge. Nach sehr trockenen heißen Frühjahren findet man auf den lange Zeit von Wasser aus den winterlichen Niederschlägen bedeckt gebliebenen Feldern, seltener auf den Terrassenplantagen vereinzelne Stöcke von abnormalem Wachstume: ½ m hoch, sehr stark verkürzte Internodien, Blätter kleiner, Spreitenfelder zwischen den Seitenrippen bauchig emporgetrieben; Blüte gewöhnlich fehlend. Ursache: vermutlich die durch ungewohnte Nahrung hervorgerufene Störung physiologischer Funktionen.

5. Spreitenverdoppelung (siamesische Zwillinge). Einige wenige Modifikationen werden beschrieben.

6) Beschädigungen durch Hagel. Abbildungen zeigen den großen Schaden.

7) Windränderung. Der Blattrand beginnt im mittleren Teile der Längsseiten in wechselnder Breite, ohne die Farbe zu verändern, zu welken und einzutrocknen. Die Bora (von Norden oder Osten kommend) ist die Ursache. Nach dem Aufhören des Windes bildet sich am Innenrande der vertrockneten mitunter noch grünlichen Blätter ein abschließendes Wundgewebe mit Fleckenbildung und Runzelung. In Dalmatien heißt die Erscheinung auch „Runzelbildung“ oder „Verrunzelung“. Manche Sorte wird stärker hergenommen. Das Umpflanzen des horizontal gelegenen Tabakfeldes mit Mais oder die Errichtung von Steinwällen schützt einigermaßen.

8. Unkräuter. Entweder schädigen sie durch Konkurrenz beim Bezuge der Nahrungsstoffe aus dem Boden, durch Verminderung des Luftgenusses oder als Überträger von Krankheitskeimen. Die Unkräuter wurden aufgezählt; das schädlichste ist Tribulus terrestris (besonders in Samenbeeten). —

Es muß hervorgehoben werden, daß der Verf. stets geschichtliche Daten und die ganze (namentlich russische) Literatur anführt. Die Abbildungen und farbigen Tafeln sind sehr gut gelungen.

Matouschek (Wien).

Gallagher, W. J., A root disease of Para (Hevea braziliensis) rubber trees. (Agric. Bull. of the Straits and Federated Malay States. Vol. 7. 1908. p. 515—522, with 1 fig.)

Die berüchtigte Wurzelkrankheit der Parabäumchen betrifft Pflanzen von 15 Monaten bis zu 2½ Jahr. Verf. sah Pflanzungen, in denen 5 Proz. der Bäumchen durch die Krankheit getötet worden waren. Durch Zirkulare orientierte er sich auf das genaueste über den Verlauf der Krankheit. Man erkennt diese erst, wenn der Stamm bereits abgestorben ist. Er trägt dann braune, metallisch glänzende Blätter, die schließlich abfallen. Mit Sicherheit wurde festgestellt, daß die Hauptwurzel zuerst angegriffen wird. Fomes semitostus wurde zweimal gefunden, ohne daß jedoch ein Zusammenhang dieses Pilzes und der Krankheit mit Sicherheit festgestellt werden konnte. Auch Armillaria mellea fand sich. Verf. gibt folgende Ratschläge zur Bekämpfung: Man isoliere die erkrankten Bäumchen in der Weise, daß man um dieselben sowie um die Nachbarbäumchen Gräben von 1 Fuß Breite und 1½ Fuß Tiefe zieht. Die Gräben lasse man 3 Monate lang offen. Das Pilzmycel töte man durch Leim und dadurch, daß man es der Sonne aussetzt.

Herter (Montevideo).

R[idley], H. N., Some diseases of rubber plants. (Agric. Bull. of the Straits and Federated Malay States. Vol. 7. 1908. p. 439—443.)

Enthält dasselbe wie der Aufsatz von Gallagher (s. obenstehend), nämlich ein Referat der Arbeit von Bernard, Sur quelques maladies des Plantes à Caoutchouc (Bull. du Dépt. de l'Agr. aux Indes Néerlandaises Vol. 12. 1907.)

Herter (Montevideo).

Smith, Ewing, Report on diseased rubbe" trees forwarded grom Puak. (Agric. Bull. of the Straits and Federated Malay States. Vol. 7. 1908. p. 90—92, m. 1 fig.)

Verf. beschreibt eine Krankheit junger Rubberbäumchen — gemeint ist wohl Hevea? —, die dem Anscheine nach von Insekten verursacht wird, deren genaue Untersuchung jedoch einen pilzlichen Schädling ergeben hat. Ein Longitudinalschnitt durch ein Stämmchen (?) ist abgebildet, welcher an einer Stelle eine Zerstörung der Rinde erkennen läßt. Verf. fand an den erkrankten Stellen einen sporifizierenden Bacillus und ein Helicobasidium (gemeint ist wohl Helicobasidium Pat. = Stypinella Schröt., eine nur harmlose Pilze enthaltende Gattung der Auriculariales).

Herter (Montevideo).

Ruhland, W., u. **von Faber, C. F.,** Zur Biologie der Plasmopara viticola. (Mitt. a. d. K. Biol. Anst. Heft 8. 1909. p. 19.)

Infektionen mit Plasmopara viticola gelingen nur, wenn die Konidien auf die Unterseite des Blattes übertragen werden; zu den Versuchen wurden pilzfreie Sämlinge in Infektionszellen benutzt. Dies Ergebnis steht in völligem Widerspruch zu der bisherigen Annahme, auf Grund deren auch zur Vorbeugung gegen Infektionen die Blattoberseite mit Kupfermitteln gespritzt wurde. Zwischen dem Zeitpunkt der Konidienübertragung und dem ersten Erscheinen der Konidienrasen liegen mindestens 5 Tage. Der

Witterung der dem Auftreten der Konidienflecke vorhergehenden Nacht ist also nur untergeordnete Bedeutung beizumessen. Auf die Keimung der Konidien hat eine vorübergehende oder dauernde Verdunkelung großen Einfluß. Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Wolf, F. A., A root rot of grapes due to Pestalozzia uvicola. (Nebraska Stat. Rpt. 1907. p. 69).

Verf. beschreibt das für Amerika erste Vorkommen von Pestalozzia uvicola auf Reben. Eichinger (Halle a. S.).

Molz, Über ein plötzliches Absterben zweier Stöcke von Riparia Rupestris in dem Reben-Veredlungsgarten der kgl. Lehranstalt in Geisenheim. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 19. 1909. p. 68—74.)

Als Todesursache stellte Verf. Vertrocknung infolge ungünstiger Witterungsverhältnisse fest. Die anatomische Untersuchung der einzelnen Pflanzenteile ergab Thyllenbildungen in den Hauptwasserleitungsbahnen, wodurch diese verstopft wurde und eine Hemmung des Transpirationsstroms eintrat. Schaffnit (Bromberg).

Faes, H., Progrès du phylloxéra. Le phylloxéra sur feuilles. (Chronique agricole du canton de Vaud. 1908. p. 409 u. 381.)

Die Reblaus vernichtete im Jahre 1906 in den Weinbergen der Waadt eine Gesamtfläche von 195 801 qm in 2123 Infektionsherden. 1907 wurden 3083 Reblausherde aufgefunden, und die Zerstörung umfaßte 249 775 qm Reben. Der Kampf wird demnach immer schwieriger und zwar weniger der Größe der einzelnen Reblausherde, als vielmehr ihrer beträchtlichen Zahl wegen.

In der Waadt tritt die Reblaus seit 1886 auf; ihre Blattgallen-bewohnende Form wurde im Gebiete dieses Kantons aber erst im Jahre 1908 zum erstenmal beobachtet. Verf. fand bei Lutry zahlreiche Reblausgallen auf Blättern amerikanischer Rebsorten. Dagegen traten sie auf den Blättern der einheimischen Reben nur ganz ausnahmsweise und vereinzelt auf und nur dann, wenn junge einheimische Reben dicht neben stark befallenen amerikanischen Reben standen. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Werth, Untersuchungen über die Infektion von Melandryum album durch Ustilago antherarum. (Mitt. aus der K. Biol. Anst. Heft 8. 1909. p. 13.)

Verf. infizierte Blüten von Melandryum album mit Sporen von Ustilago antherarum und bestäubte gleichzeitig die infizierte Blüte mit Pollen. Die Versuchspflanzen wurden unter Glasglocken gehalten. Wurde die erste sich öffnende Blüte infiziert, so reifte sie ihre Samen normal, alle später zur Entwicklung gelangenden Blüten zeigten die von Magnin u. a. beschriebenen zweigeschlechtigen Blüten.

Riehm (Gr. Lichterfelde).

Schander, R., Kartoffelkrankheiten. (Fühlings landwirtschaftl. Zeitung. Jahrg. 58. 1909. p. 273.)

Verf. bespricht die Blattrollkrankheit und die Bakterienringkrankheit und schließt sich auf Grund seiner Versuche der Appelschen Ansicht an, daß beide Krankheiten durch die Knollen von einem Jahr ins andere übertragen werden können. Die wichtigste, aber leider noch nicht vollkommen geklärte Frage ist diejenige, ob und unter welchen Verhältnissen die erste

Infektion zustande kommt. Das überaus heftige Auftreten der Blattrollkrankheit in den westdeutschen Industriebezirken läßt es wahrscheinlich erscheinen, daß dort der Nachbau infiziert worden ist. Jedenfalls sind zur Zeit alle Schlüsse über die Gefährlichkeit der Krankheit verfrüht, ehe die Verhältnisse, unter denen die Krankheit auftritt, nicht vollkommen geklärt sind. Nach den vorliegenden Beobachtungen kann man bereits annehmen, daß die beiden Krankheiten, sobald sie in einer Zucht vorhanden sind, sich im Nachbau mit der Zeit immer stärker bemerkbar machen. Boden-, Witterungseinflüsse und Kulturmethode werden allerdings auf den Grad der Verbreitung der Krankheiten einen Einfluß ausüben, maßgebend dürfte aber die Art der Weiterzucht sein. Wenn eine Sorte beim Nachbau mehrere Jahre im Ertrag zurückgeht, so nimmt Verf. gar keinen Anstand, für diesen Rückgang die zunehmende Erkrankung mit verantwortlich zu machen. Ebenso dürfte an der auffallenden Frühreife einzelner Stauden einer Sorte in vielen Fällen die Bakterienringkrankheit die Ursache sein, wie fernerhin die durch das frühe Absterben der Stauden bedingte Ertragsverminderung in vielen Fällen ebenfalls eine Folge der Erkrankung sein dürfte. Maßgebend muß neben gesundem Kraut ein in mehreren Nachzuchten gleichmäßig hoher Staudenertrag sein. Beide Krankheiten bewirken keineswegs ein seuchenartiges Absterben ganzer Bestände wie die Krautfäule, sondern es tritt mehr oder weniger schnell ein allmählicher Abbau ein. In Posen und Westpreußen bewirkten die beiden Krankheiten nur in geringem Grade größere Beschädigungen. Die Gelbfärbung der Gefäße in den Knollen ist kein Anzeichen für die Blattrollkrankheit, ebensowenig wie die braune Ringfärbung des Gefäßringes für die Bakterienringkrankheit. Auch die mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchungen lassen im Stich. Einen Anhalt gewährt uns die Beurteilung des Krautes, insofern es gelingt, stärkere Grade der Erkrankung an der Beschaffenheit des Krautes zu erkennen. Bei der Beurteilung der Blattrollkrankheit stört sehr der Umstand, daß das eigentümliche Rollen der Blätter auch durch große Nässe und Trockenheit hervorgerufen werden kann; derartige Pflanzen machen dann ganz den Eindruck schwach blattrollender Stauden. Andererseits ergaben schwach erkrankte Pflanzen bei üppigster Krautentwicklung unter Umständen sehr hohe Staudenerträge. Möglicherweise bietet die mikroskopische Untersuchung des Stengels später die Möglichkeit, die Krankheit als sicher zu bestimmen, wenn nämlich sicher nachgewiesen wird, daß die bisher gefundenen Pilzhyphen mit ihr in Verbindung stehen. Was die Bekämpfung der beiden Krankheiten anbetrifft, so liegt diese in der Zucht, die in sorgfältiger Weise durchgeführt werden muß, unter Ausscheidung aller minderwertigen und kranken Exemplare. Durch eine derartige Auslese, in Verbindung mit öfterem Saatwechsel, ist nach Verf. das einzige Mittel gegeben, den beiden Krankheiten bezw. dem durch sie bewirkten Abbau der Sorten entgegenarbeiten zu können, wobei weiter zu erwarten ist, daß auch durch Auslese die Gesamterträge der Kartoffeläcker gesteigert und gleichmäßiger gestaltet werden. Stift (Wien).

Cockayne, A. H., Notes on the spread of Phytophthora infestans with special reference to hybernating mycelium. (Transact. and Proceed. New Zealand Inst. Vol. 40. 1908. p. 316—320.)

Phytophthora infestans trat — soweit bekannt — etwa ums Jahr 1892 zum ersten Male in Neu Seeland auf. Die Epidemie im Jahre

1904 in Auckland führt Verf. auf eine Neueinschleppung des Parasiten zurück. Sehr eingehend wird die Frage der Überwinterung diskutiert. Verf. ist der Ansicht, daß ein überwinterndes Mycel (hybernating mycelium) vorhanden ist. Er stützt sich auf Freemans und seine eigenen Beobachtungen an Lolium temulentum. Über 70 Proz. des Samens enthielt im Innern Spuren von Mycel. Die Überwinterung des Mycels der Phytophthora an der Kartoffel denkt sich Verf. folgendermaßen: 1) Das Mycel dringt von den Blättern aus durch den Stamm in die Knollen; 2) Konidien fallen zu Boden und werden durch Regen usw. direkt an die Oberfläche der Knollen gebracht. Beide Fälle kämen in der Natur vor, doch nur im ersteren Falle entstehe echtes „überwinterndes Mycel". Verf. greift die Ansicht Matruchots und Molliards, daß die Phytophthora garnicht die Ursache der Kartoffelkrankheit sei, aufs heftigste an. Er stützt sich dabei auf reiche Erfahrungen; Fusarium oxysporum sei stets sekundär. Es gelang dem Verf., überwinterndes Mycel, welches im Gewebe der Kartoffeln stets zu finden ist, in Petrischalen bei 60—70° F. zu lebhaftem Wachstum und zur Sporenbildung zu bringen. In der Natur besitzt dieses Mycel jederzeit bei günstigen Witterungsverhältnissen die Fähigkeit, sich zu entwickeln und mit der Pflanze in die Höhe zu wachsen. Zum Schluß versucht Verf., den Tropismus des Mycels zu erklären. Nach der ersten Infektion an Blatt oder Stamm erscheint der Pilz positiv geotropisch, aus dem überwinternden Mycel hervorgehende Teile sind negativ geotropisch. Ursache ist nach Ansicht des Verf. chemotaktischer Reiz.

Herter (Montevideo).

Remy, Th., und **Schneider G.**, Beobachtungen über das Auftreten der Blattrollkrankheit. (Fühlings landw. Zeitung. 1909. p. 201.)

Verf. teilen ihre Beobachtungen mit, die sie über die Blattrollkrankheit im Sommer 1908 in der Rheinprovinz, insbesondere auch auf dem Versuchsfeld der Akademie gemacht haben. Niemals trat die Krankheit in einem Gebiet allgemein auf, sie war beschränkt auf einzelne Sorten und Gegenden. Doch betrug in einzelnen Fällen der durch sie angerichtete Schaden 50 Proz. und mehr. Wie auch anderswo ist Magnum bonum als besonders auffällig bezeichnet, daneben auch Paulsens Juli. Besonders interessant sind die Beobachtungen, die seit 1906 auf dem Versuchsfelde über 50 verschiedene Sorten gemacht wurden. Danach ist anzunehmen, daß der Boden des Versuchsfeldes, obwohl von vorzüglicher natürlicher Fruchtbarkeit, die Krankheit in hohem Maße begünstigt. Von auswärts bezogene Saat lieferte meist gesunden Pflanzenbestand, obwohl die der Ver uchsfelderntе entnommene Saat mit wenigen Ausnahmen (in jedem Jahr mehr) blattrollkranke Pflanzen lieferte, während in den ersten Jahren des Anbaues von Blattrollkrankheit wenig zu sehen war. Besonders schwere Talböden scheinen zur Erkrankung geneigt zu sein. Wie auch von anderen wurde vom Verf. festgestellt, daß eine bloße Auslese scheinbar gesunder Stauden zur Unterdrückung der Krankheit nicht ausreicht. Eichinger (Halle a. S.)

Appel, O. und **Kreitz**, Die Blattrollkrankheit der Kartoffel. (Mitt. aus der k. Biol. Anst. Heft 8. 1909. p. 15.)

Feldversuche des Jahres 1907 hatten gezeigt, daß die Blattrollkrankheit an den aus normal entwickelten Knollen gesunder Pflanzen auftreten kann.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Die Nachkommen der 1907 erstmalig erkrankten Stöcke wurden 1908 ausgelegt und lieferten sämtlich wieder kranke Pflanzen.

Knollen von einem kranken Felde wurden angekeimt und die 5—10 cm langen Triebe abgetrennt und in Töpfe verpflanzt; nur ein Teil der Stecklinge enthielt Mycel. Bei diesen aus Stecklingen gezogenen Pflanzen zeigte sich früh das Krankheitsbild; „in dem frühen Sichtbarwerden der Krankheit dürfte ein Beweis für ihre Vererbbarkeit liegen".

Eine eingehende Untersuchung von Saatknollen zeigte, daß die Verfärbung des Gefäßbündelringes kein zuverlässiges Merkmal für die Erkrankung ist. Obwohl die Ätiologie der Krankheit noch nicht feststeht, wurden Bekämpfungsversuche gemacht, die aber keinen Erfolg hatten.

Riehm (Groß-Lichterfelde).

Appel, O. und **Wollenweber,** Studien über Kartoffel-Fusarien. (Mitt. aus der k. Biol. Anst. Heft 8. 1909. p. 17.)

Bei der Untersuchung zahlreicher blattrollkranker Pflanzen wurde im Jahre 1908 in den Gefäßen vorwiegend Verticillium alboatrum gefunden. — Verschiedene Fusariumarten, die von Kartoffelknollen stammten, wurden auf gleichen Nährböden unter gleichen Bedingungen kultiviert. Es wurden vorläufig drei Formen als wohl unterscheidbar erkannt; als Unterscheidungsmerkmal erwiesen sich die Farbe und Form der Konidien, während die Größe erheblichen Schwankungen unterworfen war.

Vorversuche über die Pathogenität des Fusarium (Fusisporium) Solani (Martius) Saccardo, das mit Fusarium oxysporum sicher nicht identisch ist, führten nicht zu einem befriedigenden Ergebnis. Riehm (Groß-Lichterfelde).

Grosser, Der Kartoffelkrebs. (Zeitschr. d. Landw.-Kammer f. d. Prov. Schlesien. 1909. p. 614.)

Verf. berichtet über das Auftreten des Kartoffelkrebses im südlichen Schlesien. Die Krankheit war bisher nur im Westen Deutschlands, in der Rheinprovinz und in Westfalen bekannt. Verf. stellte fest, daß die Saatknollen des erkrankten Feldes aus Ungarn bezogen waren. Diese Feststellung ist von besonderem Interesse, denn man nahm bisher an, daß der Kartoffelkrebs seit seinem Auftreten in Ungarn im Jahre 1896 von selbst wieder verschwunden sei. Zur Bekämpfung wird Vernichtung der befallenen Pflanzen empfohlen, so lange die Krankheit noch nicht weiter nm sich gegriffen hat,

Riehm (Gr. Lichterfelde).

Busse, W. und **Ulrich,** Der Wurzelbrand der Rüben. (Mitt. aus der k. Biol. Anst. Heft 8. 1909. p. 21).

Die Beobachtungen in drei aufeinanderfolgenden Jahren zeigten, daß das Auftreten der einzelnen Wurzelbranderreger von der Niederschlagsmenge im Frühjahre abhängig ist. Während im regenarmen Frühjahr 1906 Phoma betae als Erreger des Wurzelbrandes vorherrschend auftrat, waren in den Jahren 1907 und 1908, die im Frühjahr reichliche Niederschlagsmengen aufwiesen, Pythium de Baryanum und Aphanomyces laevis vorherrschend. — An der Rübensaat haftet, wie frühere Untersuchungen zeigten, nur Phoma betae. Dieser Pilz kommt im Boden höchstwahrscheinlich nicht vor. Es wurden nämlich von Rübenfeldern Bodenproben entnommen und mit sterilisierter Rübensaat beschickt; keiner der auftretenden Wurzelbrandfälle war durch Phoma hervorgerufen. Die Bekämpfungsversuche sind noch nicht abgeschlossen. Riehm (Groß-Lichterfelde).

Busse, W. und **Ulrich,** Die Herz- und Trockenfäule der Rüben. (Mitt. aus der k. Biol. Anst. Heft 8. 1909. p. 24.)

Von einem Felde, das stark unter Herz- und Trockenfäule zu leiden hatte, wurden aus verschiedenen Tiefen Proben entnommen; zum Vergleich dienten Proben von einem Teil desselben Feldes, der frei von der Krankheit gewesen war. Ein Teil jeder Probe wurde sofort in luftdicht verschlossene Gefäße gebracht. Es zeigte sich, daß der Boden mit gesundem Bestande bis zu einer Tiefe von 30 cm einen höheren Wassergehalt hatte als der kranke Boden. Die Hygroskopicitätsprüfung nach Mitscherlich ergab für den gesunden Boden 4,13 bezw. 4,54 Proz., gegenüber 1,61 bezw. 2,42 Proz. für den Boden mit erkranktem Bestand.

Riehm (Groß-Lichterfelde).

Krüger, W., und **Wimmer, G.,** Über die Herz- und Trockenfäule. (Zeitschr. d. Ver. d. Deutsch. Zuckerindustrie. Bd. 59. 1909. p. 379.)

Nach den langjährigen Beobachtungen der Verff. kann die Herz- und Trockenfäule auch bei Gefäßversuchen, besonders solchen, welche nach der Methode der Sandkultur ausgeführt werden, in verheerender Weise auftreten, so daß sie die Behauptung aufstellen, daß mit Überwindung der Herzfäule die Anwendung der Methode der Sandkultur für Vegetationsversuche mit Zuckerrüben steht und fällt. Aus ihren Kulturversuchen stellten die Verff. schließlich für die Entstehung und Bekämpfung der Herz- und Trockenfäule folgende Grundsätze auf: 1) Diese Krankheit entsteht durch Wachstumsstörungen, hervorgerufen durch die Verarbeitung der salpetersauren Salze der Düngung. 2) Der eigentliche Grund für die Entstehung der Krankheit ist in den bei der Verarbeitung der Nitrate entstehenden alkalisch reagierenden und schädlich wirkenden Resten zu suchen. 3) Durch rechtzeitige Umwandlung dieser alkalischen Reste in unschädliche Verbindungen wird die krankheitserregende Ursache beseitigt. 4) Die Witterung in ihrer Gesamterscheinung ist wegen ihres Einflusses auf das mehr oder weniger üppige Gedeihen der Pflanzen für das Auftreten der Krankheit von großer Bedeutung, ohne daß bis jetzt alle Einzelheiten hierbei mit Sicherheit erkannt worden wären. 5) Ist die unter 3) angegebene Umwandlung nicht oder nur unzureichend möglich, so tritt die Krankheit um so stärker auf, je mehr Salpeterstickstoff und je mehr Bodenfeuchtigkeit bei ausreichender Wärme den Rüben zur Verfügung steht, d. h. je üppiger die Pflanzen wachsen. 6) Trockenheit, d. h. geringe Bodenfeuchtigkeit befördert unter keinen Umständen die Krankheit, sondern ist das beste Heil- und Vorbeugungsmittel, da dieselbe das Wachstum hemmt, das Auftreten der genannten schädlichen Stoffe verlangsamt und dadurch deren Umsetzung in unschädliche Verbindungen erleichtert.

Diese Grundsätze gelten als vorläufig nur für die Herz- und Trockenfäule, welche bei den nach der Methode der Sandkultur ausgeführten Rübenkulturversuchen auftritt, aber hier mit völliger Sicherheit. Man hat es in der Hand, in nebeneinander stehenden Kulturgefäßen jede Stärke von Herzfäule hervorzubringen und in Gefäßen, welche ursprünglich die Bedingungen für das Auftreten der Krankheit in sich tragen, die Herzfäule gänzlich zu verhindern, lediglich durch nach obigen Grundsätzen ausgeführte Änderungen der Wachstumsbedingungen. So weit die Verff. feststellen konnten, handelt es sich nun bei der in ihren Kulturgefäßen auftretenden Herzfäule um genau dieselbe Krankheit, welche auch auf dem Felde als Herz- und Trockenfäule bezeichnet wird. Die Verf. sind sich wohl bewußt, daß die obigen 6 Leitsätze teilweise, besonders so weit sie die Bodenfeuchtigkeit betreffen, mit den Erfahrungen der Praxis in Widerspruch stehen, glauben aber sicher, falls es sich hier in beiden Fällen wirklich um die gleiche Krankheit handelt, daß dieser Widerspruch nur scheinbar besteht. Wie die Verff. des Näheren ausführen, fällt nach ihren Beobachtungen das Absterben der Herzblätter, demgemäß für einen Praktiker, welcher die Pflanzen vorher nicht unausgesetzt genau beobachtet hat, das Auftreten der Herzfäule nur zufällig mit dem Eintritt der sommerlichen Trockenperioden ungefähr zusammen; der Beginn der Krankheit liegt vielmehr in der Zeit oft großer Regenfälle und des üppigsten Wachstums. Den Verff. ist es niemals gelungen, selbst durch Herabsetzung großer Bodenfeuchtigkeit auf ein sehr niedriges Maß, die Herzfäule oder auch nur dieser ähnliche Erscheinungen zu erzeugen, da sich die Pflanze bald an die geringere Bodenfeuchtigkeit gewöhnt, zwar langsam und spärlich, aber als gesunde Pflanze weiter wächst. Die Herzfäule der Rüben ist nach den Erfahrungen der Verff. gar keine bestimmte Rübenkrankheit, sondern äußert sich bei sehr vielen Pflanzen in zwar etwas anderer, aber ähnlicher Weise, z. B. ausgeprägt bei Senf und Kartoffeln. Sollte sich ergeben, daß auf dem Felde die Herzfäule unter Umständen dieselbe Ursache haben kann wie bei den Gefäßversuchen, so würde man, da die Landwirtschaft feuchten und trockenen Perioden ziemlich machtlos gegenübersteht, die Gegenmaßregeln auf die Verbesserung der physikalischen Eigenschaften des Bodens (Lockerung und Vermehrung des Humusgehaltes), sowie auf geeignete Düngungsmaßnahmen beschränken müssen. Durch Lockerung wird der Kohlensäure der Luft freierer Zutritt verschafft, durch Humussäuren (Anwendung von Torf) und geeignete Düngung können schädliche alkalische Verbindungen in unschädliche übergeführt werden. Erwünscht wären auch Versuche mit einer Gipsdüngung (durch welche die schädlichen Alkalien des Bodens in kohlensauren Kalk und neutrale schwefelsaure Salze umgesetzt werden). Je weniger humose Teile ein Boden enthält, desto größer muß die Gipsdüngung sein. Der Boden ist dabei möglichst zu lockern und in der Zeit des üppigsten Wachstums, besonders nach starken Regenfällen, wenn noch möglich, mit der Hacke zu bearbeiten. Sollte sich herausstellen, daß die von den Verf. beobachtete, bei Gefäßversuchen auftretende Herz- und Trockenfäule auch auf dem Felde zu finden ist und dort dieselbe Ursache hat, so würde dadurch aufs neue erwiesen, welch große Bedeutung unter Umständen nach der Methode der Sandkultur ausgeführte Vegetationsversuche gerade für die praktische Landwirtschaft haben; es wäre aufs neue festgestellt, daß derartige, das innerste Pflanzenleben betreffende und doch mit der praktischen Landwirtschaft so eng zusammenhängende Fragen durch Feldversuche allein kaum oder doch nur sehr schwierig zu lösen sind.

Stift (Wien).

Karl, W. V., Some tomato fruits rots during 1907. (Nebraska Stat. Rpt. 1907. p. 1.)

Behandelt werden Schwarzfäule, verursacht durch Alternaria fasciculata, eine Rhizoctonia-Krankheit, die Anthraknose verursacht durch Colletotrichum lycopersici, die Fusarium-Erkrankung durch Fusarium sp. und Fusarium solani. Die Anthraknose tritt auf fast allen frühen Sorten auf, etwas seltener die Fusariumfäule. Die andern Krankheiten zeigen sich mehr oder weniger stark in der spät ren Zeit. Sorten mit aufrechten Kraut und dickschaligen Früchten sind widerstandsfähiger als solche mit niederliegendem Kraut und dünnschaligen Früchten. Eichinger (Halle a. S.).

Lutz, M. L., Sur l'accumulation des nitrates dans les plantes parasites et saprophytes et sur l' insuffisance de la diphénylamine sulfurique comme réactif microchimique de ces substances. (Bull. de la Soc. Bot. de France. T. 55. Paris. 1908. p. 104—109.)

Was die botanische Seite dieser Mitteilung betrifft, so offenbart sich in ihren Tabellen über die Parasiten eine weitgehende Konfusion und Kritiklosigkeit. Man versteht aus der Zusammenstellung der 3 Tabellen: 1) Parasites absolues, 2) Parasites relatives à chlorophylle, 3) Parasites relatives sans chlorophylle, nicht, nach welchen Gesichtspunkten eigentlich diese Gruppen aufgestellt sind. In der ersten Gruppe finden sich neben chlorphyllfreien Parasiten auch die Mistel und Arceuthobium, also grüne Parasiten, angeführt. Die zweite Gruppe zählt neben Rhinanthaceen und Santalaceen auch zwei Ephedra-Arten als Parasiten (!) auf. Die dritte Gruppe enthält neben Orobancheen auch Monotropa Hypopitys und Limodorum abortivum, doch wohl zwei sicher erkannte Saprophyten!

Wertvoll und beachtenswert scheint hingegen der die chemische Seite treffende Teil der Arbeit. Lutz zeigt auf verschiedenem Wege, wie die Anwesenheit mancher Substanzen die Reaktionswirkung des schwefelsauren Diphenylamin aufhebt und weist darauf hin, daß infolge dessen die von M. Mirande in seiner Abhandlung „Les plantes phanérogames parasites et le nitrates" (Compt. rend. 1907. 145. p. 507—509) gezogenen Schlüsse keine sichere Begründung haben. Der Verf. faßt das Ergebnis seiner Untersuchung in folgenden Worten zusammen: „So zeigt es sich in voller Klarheit, daß reduzierende Substanzen und selbst in geringsten Mengen genügen, um die mikrochemische Reaktion mit Diphenylamin zu vereiteln. Da solche Stoffe wenn nicht stets, so doch gewiß meistens im chlorophyllhaltigem Gewebe anwesend sind, kann man sagen, daß das schwefelsaure Diphenylamin nicht als ein sicheres Reaktionsmittel für den Nitratnachweis in der Pflanze angesehen werden kann." Heinricher (Innsbruck).

Filter, Akklimatisationsversuche mit Grobseide. (Ill. landw. Zeitung. Jahrg. 1909. No. 17.)

Durch Anbauversuche führt Verf. den Nachweis, daß Grobseide (Cuscuta racemosa) auch für unsere Breitengrade als gefährlicher Schmarotzer anzusehen ist. Als Wirtspflanze wurde ungarischer Rotklee gewählt. Die keimfähigen Samen des Schmarotzers zeigten eine hellere Farbe als importierte und waren etwas kleiner als diese. Schaffnit (Bromberg).

Ridley, H. N., Some insect pests. (Agric. Bull. of the Straits and Feterated Malay States. Vol. 7. 1908. p. 610—611.)

In „Mem. of the Dept. of Agriculture in India II no. 3" ist ein Aufsatz von Maxwell-Lefroy über Dysdercus cingulatus enthalten, welcher kurz referiert wird. Der Schädling bewohnt den Baumwollstrauch, mehrere Hibiscus-Arten und Bombax malabaricum. Hibiscus esculentus übt eine größere Anziehungskraft auf die

Insekten aus als die Baumwolle, man pflanzt deshalb den Hibiscus an und sucht von ihm die Tiere ab.

Die zitierte Arbeit enthält eine kolorierte Tafel mit Darstellung verschiedener Entwicklungsstadien des Schädlings. Herter (Montevideo).

Schreiber, Karl, Raupenkalender. Nach Futterpflanzen geordnet für das mitteleuropäische Faunengebiet. 2. Aufl. 8⁰. Erfurt (O. Rapp) 1908. 1,50 ℳ.

Die erste Auflage erschien 1901. Das Werkchen ist für den praktischen Sammler bestimmt, der auf kurzem Wege zu einer präzisen aber erschöpfenden Auskunft gelangen will. Dies wird erreicht durch eine tabellarische Anlage des Kalenders. Die in Betracht kommenden Pflanzen sind nach ihrem vulgären deutschen Namen angegeben. Es folgen 10 vertikale Monatsspalten, in denen die Erscheinungszeit der einzelnen Arten angegeben ist. In der letzten Spalte folgen oft Hinweise über die Eigentümlichkeiten der Lebensweise, welche für den Sammler von großem Werte beim Suchen sind. Man erfährt also nicht nur die Raupenarten, die an einer bestimmten Pflanze zu einer bestimmten Zeit zu finden sind, sondern auch welche Pflanzen zu einer solchen Zeit für eine begehrte Raupenart in Betracht kommen. Das Büchlein ist recht handlich. In Bezug auf die 1. Auflage unterscheidet sich die 2. durch viele Verbesserungen und Zusätze. Matouschek (Wien).

Maxwell-Lefroy, H., The Castor semi-looper (Ophiusa melicerte Dr.) (Memoirs of the Dept. of Agric. in India. Vol. 2. 1908. No. 4.)

Der in Indien weit verbreitete Schädling kommt auf wildwachsenden Euphorbiaceen, besonders auf Ricinus communis vor. Der Verf. beschreibt das Insekt, seine Lebensgeschichte und die von ihm hervorgerufenen Schädigungen, sowie seine Bekämpfung. Letztere ist, wie Maxwell-Lefroy ausführt, sehr schwierig. Als einziges Mittel kommt das Absuchen der Larven von den Pflanzen in Betracht, was jedoch nur dann möglich ist, wenn der Schädling nicht stark auftritt. Das Bespritzen der Pflanzen mit Magengiften ist ebenfalls zu empfehlen, aber nur, wenn die Blätter der Pflanzen später nicht zur Nahrung der Seidenraupen dienen sollen.

v. Faber (Buitenzorg).

Berger, E. W., Whitefly studies in 1908. (Florida Agric. Exp. Stat. Bull. No. 97. 1909. p. 41—71, with 19 fig.)

Unter den natürlichen Feinden der gefürchteten „Whitefly“ (Aleyrodes citri, A. nubifera, A. floridensis) stehen die Pilze obenan. Es sind dies in der Reihenfolge ihrer Entdeckung:

1) Aschersonia aleyrodis Webber (Red fungus of whitefly), 1893.
2) Brown fungus of whitefly, 1896.
3) Sphaerostilbe coccophila Tul. (Red-headed scale fungus), 1903.
4) Aschersonia flavo-citrina (Yellow fungus of whitefly), 1906.
5) Microcera sp. (White-fringe fungus of whitefly), 1907.
6) Verticillium heterocladum Penzig (Cinnamon fungus of whitefly), 1907.
7) Sporotrichum sp., 1908.

Von diesen Pilzen ist No. 3 nur einmal gefunden worden, und wird deshalb in der vorliegenden Arbeit nicht weiter in Betracht gezogen; No. 7 lebt in den erwachsenen Fliegen, die übrigen in den Larven. Die Bekämpfung der

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Whitefly mit Hilfe der Pilze geschieht am besten in der Weise, daß man die Sporen mit Wasser auf die Bäume spritzt. Die Kosten des Verfahrens belaufen sich auf 2—5 Cents pro Baum. Die günstigste Zeit für die Entwicklung des Pilzes sind die warmen, regenreichen Monate April—Oktober; während dieser Zeit wird die Operation mehrmals wiederholt. Die Pilze müssen in die jungen Larven am besten in der Zeit zwischen den ersten Häutungen eindringen. Im Winter empfiehlt es sich, die Bäume mit Insekticiden zu behandeln. Die Experimentstation ist nicht in der Lage, Pilzkulturen abzugeben, dagegen sind eine große Reihe von Privatleuten, die vom Verf. namhaft gemacht werden, bereit, Material zu verteilen und Auskunft über die Art der Bekämpfung und ihre Erfolge zu geben.

Verf. gibt nun eine nähere Beschreibung der Pilze, die mit mehreren leider nur makroskopischen Abbildungen versehen ist. So stellen die Figuren 2 und 6—8 Citrusblätter dar, die mit dem Red fungus, dem Brown fungus, dem White-fringe fungus und dem Cinnamon fungus bedeckt sind. In Fig. 3—5 sind Whiteflylarven abgebildet, deren Inneres der Red fungus in verschiedenen Entwicklungsstadien bewohnt. Auf diesen Pilzen leben nun parasitisch weitere Pilze: Ein Cladosporium zerstört die rote und gelbe Aschersonia, besonders die letztere. Auf dem Brown fungus lebt ein Coniothyrium. Der Hauptschaden, den diese „2 × Überparasiten“ verursachen, besteht darin, daß sie die Sporen abtöten, die sonst die Whitefly infizieren würden. Auf stark erkrankten Citrusbäumchen tritt ein Rußtau, Meliola sp., auf und bedeckt Eier, Larven usw. Er ist vielleicht auch an der Zerstörung derselben beteiligt.

Schließlich wird das Leben von Aleyrodes eingehend dargestellt. Eier, Larven in allen Stadien und ausgebildete Insekten sind abgebildet. Von Interesse ist auch das Verzeichnis der Wirtspflanzen. Die Whitefly bevorzugt die einheimischen Bäume Fagara Clava-Herculis und Diospyros Virginiana sowie die importierten Citrusarten (sämtliche Varietäten), Melia Azedarach, Gardenia jasminoides, Ligustrumarten, Diospyros Kaki. Weniger bevorzugte Wirte sind die Gattungen Laurocerasus, Smilax, Rubus, Quercus, Sabal, Viburnum, Coffea, Punica, Allamanda, Lonicera, Ficus, Nerium, Pirus, Syringa, Michelia, Camellia. Herter (Montevideo).

Wünn, Hermann, Beobachtungen über eine in Mitteleuropa eingeschleppte Höhlenheuschrecke. (Zeitschr. f. wissensch. Insektenbiol. Bd. 5. (XIV.) p. 82—86, 113—120, 163—166).

Die in verschiedenen Tagesblättern aufgetauchte Nachricht, daß durch das plötzliche Auftreten einer exotischen Heuschreckenart in Gewächshäusern an mehreren Stellen Deutschlands eine ernste Gefahr drohe, hat den Verf. veranlaßt, als ihm ein Kunstgärtner in Fulda eine Anzahl der betr. Tiere lebend übergab, an ihnen genaue Beobachtungen anzustellen, indem er sie längere Zeit im Terrarium hielt. Aus den sorgfältigen, etwas breit ausgeführten Beobachtungen geht mit Sicherheit hervor, daß diese flügellose Schrecke vegetabilische Kost verschmäht, nur gelegentlich an Früchten nascht, im übrigen aber sich räuberisch ernährt. Mat hat in dieser Art somit nicht nur keinen Schädling, sondern sogar eine Hilfe gegen

Schädlinge zu erblicken, da diese Schrecken im Gewächshause allerhand Schädlinge im Schach halten können.

Die Spezies pflanzt sich ohne Schwierigkeit im Terrarium fort. Der Verf. spricht sie im Gegensatz zu den Zeitungsnachrichten, die sie Diestrammena marmorata de Haan nennen, als eine andere Art dieser Gattung, als D. unicolor Brunner an. — Diese Insekten sind im japanischen Faunengebiet zu Hause. In Deutschland hat man sie zuerst 1903 in Wandsbeck beobachtet, später in Fulda, Frankfurt a. M., Erfurt, Südmühle b. Münster, Darmstadt und in Lommatzsch in Sachsen.

K. Friederichs (Berlin).

Altmann, Nonneninvasion und Ausbruch der Wipfelkrankheit. (Österreich. Forst- u. Jagdztg. Jahrg. 27. 1909. p. 105—106.)

Verf. fand in böhmischen Revieren „Fraßkessel" namentlich in feuchten geschützten Mulden. Sie bilden die Ausgangsstellen des zukünftigen sich exzentrisch verbreitenden Fraßes. Ende Juni fielen infolge der „Schlafsucht" die schwerkranken Raupen von den Kronen der Kiefern direkt hinunter und bedeckten zu Tausenden den Waldboden. Die Krankheit nahm unmittelbar bei den Fraßkesseln ihren Ursprung. Fällt die Schlafsucht in den Mai (noch vor der Halbwüchsigkeit der Raupen), so sind die befallenen Bestände gerettet. Bei der Kiefer ist der Fraß um diese Zeit noch gering, die Fichte, welche stärker beschädigt wird, regeneriert sich aber durch Proventivknospen sehr, sodaß eine Saftstockung und damit eine sekundäre Ansiedlung von Bastkäfern ausgeschlossen erscheint. Der Zeitpunkt des Krankheitsausbruches hängt von Wettereinflüssen, aber auch von einer gewissen Prädisposition der Raupen ab. Die Schlafsucht (Flacherie) wütete dort am stärksten, wo im Vorjahre viele degenerierte Falter vorkamen, also im Umkreise der Fraßkesseln. Mittel, um den Ausbruch der Krankheit zu beschleunigen sind also: Die Bildung von Fraßzentren und der Leimring. Das erste Mittel ist eben die Schaffung eines Kahlfraßes im Kleinen. In denselben setzt man gesammelte Raupen solange, bis ein wirksamer Krankheitsherd entsteht. Bei der Kiefer erfüllt der Leimring völlig seine Aufgabe: durch massenhafte Ansammlung, durch anhaltendes Hungern und durch Notverpuppung wird der Krankheidsherd geschaffen. Auf je 1000 ha Waldfläche empfiehlt sich eine Volleimung von 250 ha.

Matouschek (Wien).

Beal, F. E. L., Birds of California in relation to the fruit industry. Part 1. (U. S. Departm. Agric., Biol. Curv. Bull., No. 30. 1907. 100 p. 5 Tafeln.)

Durch die fortschreitende Besiedlung Kaliforniens sind die Existenzbedingungen für die Vögel verändert worden und damit auch die Zusammensetzung der Vogelwelt selbst. Einzelne Arten vermehrten sich, andere verschwanden, je nachdem ob man Obstgärten oder Getreidefelder anlegte. Kalifornien ist sehr reich an Vogelarten. Diese wandern nicht nur von Nord nach Süd und zurück, sondern auch von den Bergen, wo sie brüten, im Herbst in die Täler und im Frühjahr zurück. Bei diesen Wanderungen fallen oft große Scharen in Obstgärten ein und haben dabei schon ganze Ernten z. B. von Oliven vernichtet. Die Obstbäume werden von den Vögeln in Kalifornien mehr in Anspruch genommen, als an der atlantischen Küste, weil im Osten weit mehr wildes Obst und Beerenfrüchte wachsen, als in Kalifornien, und ferner können in diesem dürren Lande die Vögel ihr Wasserbedürfnis weit schwerer befriedigen, sind daher auf die kultivierten Früchte z. T. angewiesen. Demnach könnte man durch Anlegen von Wasserplätzen in und bei den Gärten und durch Anpflanzen wilden Obstes und beerentragender Sträucher außerhalb der Plantagen die Vögel von dem Obst der Plantagen etwas ablenken. Übrigens wird das Fortschreiten der Besiedlung ohnehin zu einer Verminderung der Vögel und damit dieser Schäden führen. Wohl der größte Schädling ist der „home finchk“ (Carpodacus mexicanus frontalis), der zwar in der Hauptsache Körnerfresser ist, aber kolossale Mengen von Früchten zerstört, indem er sie anpickt, ohne sie ganz aufzufressen. Die Behauptung, daß er auch Blütenknospen im Frühjahr vernichte, fand durch Magenuntersuchungen keine Stütze. Verf. geht so die sämtlichen in Betracht kommenden Gruppen von Arten durch, wobei die meisten Arten sich im allgemeinen als dem Obstbau überaus nützlich erweisen. — Die ganze Frage des Nutzens oder Schadens einer Vogelart ist nach Ansicht des Ref. Sache des Einzelfalls. Die Staare z. B. sind sicher des Schutzes, den sie genießen, wert, aber wir müssen unsere Kirschen vor ihnen schützen, und sie dazu, wenn nötig, abschießen, wenn sie unsere Kirschbäume überfallen. Selbst die nützlichsten von allen Vögeln, die Meisen, sind schon schädlich geworden, sowohl bei uns, wie auch in Kalifornien dem Bulletin zufolge. Der ökonomisch wie vom Naturschutz-Standpunkte einzig richtige Standpunkt ist u. a. von K. Eckstein vertreten worden, daß ein im allgemeinen schädlicher Vogel nur sollte geschossen werden dürfen, wo er nachweislich Schaden anrichtet, z. B. der Fischadler wohl am Fischteich, nicht aber am Horst. Umgekehrt sollte man auch gegen einen im allgemeinen nützlichen Vogel im Einzelfall (event. mit besonderer behördlicher Erlaubnis)! sich schützen dürfen, wenn er nachgewiesenermaßen an einer Stelle erheblich schädlich wird. Der Wert der Untersuchungen über Nutzen und Schaden, wie der vorgenannten, bleibt gleichwohl bestehen. Wir können auch im einzelnen Schadensfall nur dann zu einer richtigen Beurteilung kommen, wenn die Lebensgewohnheiten der Vögel genau bekannt sind.

K. Friederichs (Berlin).

Jacobasch, Mehrere Monstrositäten und Verpa Brebissoni von einem zweiten Standorte. (Mitteil. d. thüring. botan. Ver. N. F. Heft 25. Weimar 1909. p. 57—58.)

Jacobasch, Monstrositäten und ein in der Kultur äußerst üppig gewordener Asparagus Sprengeri. (Ibidem. p. 66—67.)

Die Monstrositäten betreffen folgende Pflanzen: Daucus Carota, Sisymbrium officinale, Bellis perennis, Taraxacum officinale, Picea vulgaris Lk., Marasmius scorodonius Fries, Morchella esculenta var. vulgaris, var. rotunda, Roggen (Halm mit 7 Ähren und ein Halm mit Spaltung), Georgina variabilis Wild., Asparagus Sprengeri). Die Monstrositäten werden genau beschrieben.

Matouschek (Wien).

Nalepa, A., Eriophyiden. (Botanische und zoologische Ergebnisse einer wissenschaftlichen Forschungsreise nach den Samoa-Inseln, dem Neuguinea-Archipel und den Salomonsinseln. Teil VI.) (Denkschriften d. math.-nat. Klasse d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien. Bd. 86. 1908. 14 pp. m. 2 Taf. u. einigen Textabbild.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Eriophyes hibisci Nal. erzeugt auf den Blättern von Hibiscus rosa sinensis L. Ausstülpungen der Blattspreite nach oben; die Gallen sind zerstreut oder in Gruppen vereinigt. — Eriophyes hibiscitileus Nal. bildet 1—3 mm große Blattgallen auf Hibiscus tiliaceus L. — Eriophyes altus Nal. befällt Ipomaea denticulata Ch.; die Gallen sind außen und innen haarlos. — Eriophyes aoecus Nal. (sehr interessante Gallen auf Evodia hortensis F.). — Eriophyes samoensis Nal. erzeugt auf den Blättern von Spiraeanthemum samoense A. Gr. kleine halbkugelige Gallen. — Eriophyes pauropus Nal. bringt auffallende Gallen am Blattrande der Fiederblättchen von Nephrolepis hirsutula Presl hervor. — Eriophyes cingulatus Nal. verursacht auf Eugenia Wightiana Wight. Knospendeformationen und Zweigwucherungen von strauchartigem Aussehen; Laubblätter werden an solchen Stellen nie entwickelt. Die Art zeigt eine auffallend breite Ringelung des Abdomens, ungemein kurze und zarte Abdominalborsten. — Phyllocoptes Rechingeri Nal. lebt als Inquiline in den Gallen von Eriophyes samoensis auf Spiraeanthemum samoense A. Gr. — Oxypleurites bisetus Nal. lebt in den Blattausstülpungen von Hibiscus rosa sinensis L.; die Art weicht von den bisher aus Europa bekannt gewordenen Arten dieser Gattung bedeutend ab. — Im geschlossenen Urwalde bemerkte der Sammler Dr. K. Rechinger keine Milbengallen.

Matouschek (Wien).

Trotter, A., Un caso di „tuberizzazione parassitaria" in piante di Amarantus silvestris Desf. (Nota preliminare). — (Bull. Soc. Bot. Italiana. 1908. pp. 117—120.)

Cystopus Blitii de Bary findet sich im Konidienzustande auf den Blättern, als oosporenbildendes Mycel im Stamme von Amarantus silvestris. Verf. fand ein wenig über der Erdoberfläche Hypertrophien von braunroter Farbe, welche nicht fruktifizierendes Mycel des Pilzes enthielten. Herter (Montevideo).

Dangeard, P. A., Note sur une zoocécidie rencontrée chez un Ascomycète: l'Ascobolus furfuraceus. (Bull. de la Soc. Bot. de France. Vol. 56. 1909. p. 54—56.)

Tierische Gallen sind auf Pilzen bisher wohl selten beobachtet worden. Verf. fand in einer Kultur des Ascobolus furfuraceus auf Pferdemist die Knöllchen, welche den Anfang der Perithecien andeuten, von Älchen erfüllt, welche bedeutende Deformationen verursachten. Die sonst gelb gefärbten Knöllchen blieben weiß, es erschienen keine ascogenen Hyphen, jede Fruchtkörperbildung unterblieb, die Ascogone des Pilzes wurde von dem Schmarotzer „kastriert", wie Verf. sich ausdrückt.

Molliard bemerkt dazu, daß er auf der Hymenialfläche von Polyporus squamosus ebenfalls Zoocecidien beobachtet habe. Der Parasit verursachte Knöllchenbildung und Kastration an den infizierten Stellen.

Herter (Moutevideo).

Sorauer, P., Ein interessanter Fall von Ammoniakvergiftung. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Beigabe: Internat. phytopatholog. Dienst. Bd. I. 1908. p. 61—62.)

Eine Berliner Gärtnerei hatte aus Dresden einen Waggon Azaleen bezogen, verweigerte aber die Annahme, da die Pflanzen schwarzblätterig ankamen und angeblich unterwegs durch Frost gelitten hatten. Die Untersuchung ergab, daß die Azaleen durch ammoniakhaltige Dämpfe beschädigt waren. In dem Waggon war vorher schwefelsaures Ammoniak in Säcken und vor dieser Ladung Zement befördert worden. Da Zement freien Kalk enthält, so war durch die Kalkrückstände das schwefelsaure Ammoniak zur Entwicklung freien Ammoniaks veranlaßt worden. Die Eisenbahnverwaltung regelte den Fall durch gütlichen Vergleich. Herter (Montevideo).

Digitized by Google · Original from UNIVERSITY OF IOWA

Jaccard, Paul, Wirkung des Frostes auf den Blattabfall. (Schweizer. Zeitschr. f. Forstwesen. 1909. p. 105.)

Nach den ersten Frösten lassen die sommergrünen Bäume ihre Blätter gewöhnlich sofort fallen; trotz des Frostes vom 20.—23. Oktober war dies im Herbst 1908 in Zürich aber nicht der Fall. Verf. untersuchte das Verhalten eines Roßkastanienbaumes näher. Obschon die erfrorenen Blätter brüchig und gekräuselt waren, behielten sie doch die grüne Farbe und die Hälfte blieb bis über den 9. November hinaus am Baum. Die Zweige zeigten an der Ansatzstelle der Blätter wohl Wundperiderm, aber es fehlte die Trennungsschicht im Stiel. Die Ablösung, welche z. T. erst 4 Wochen nach dem Erfrieren erfolgte, konnte deshalb nicht in normaler Weise, sondern nur durch Zerreißung der Zellen an der Basis des Blattstieles erfolgen.

Diese Verhältnisse sind auf den Umstand zurückzuführen, daß die Vegetationstätigkeit, infolge der außergewöhnlich milden Witterung der drei ersten Oktoberwochen, bis zum ersten Froste eine lebhafte geblieben war, so daß sich das Laub noch nicht auf den Blattfall vorbereitet hatte.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Maximow, N., Zur Frage über das Erfrieren der Pflanzen. (Journal bot. éd. de la Section de Botanique de la société imper. des Natur. de St. Pétersbourg. 1908. p. 32—46). [Russisch m. deutsch. Resumé.]

Arbeiten von Gorke und Buhlert deuten darauf hin, daß zwischen Frosthärte und dem hohen osmotischen Drucke des Zellsaftes ein direkter Zusammenhang existiert. Die Prüfung durch das Experiment stand aus. Diese Lücke benützte Verf., um an einem Objekte — Aspergillus niger — Experimente vorzunehmen. Der Pilz ist ja sehr empfindlich gegen Frost und anderseits kann man in der Kultur die Wirkung des osmotischen Zellsaft-Druckes auf diverse konzentrierte Lösungen leicht studieren. Die Arbeitsmethode war folgende: Zwei bis drei Tage alte Kulturen von gleicher Beschaffenheit befanden sich in zwei Kolben; in den einen führte Verf. Glyzerin oder Zuckerlösungen, der andere Kolben diente zur Kontrolle. Bei gewöhnlicher Temperatur wurde zuerst die Intensität der Atmung studiert, dann kamen das Kolbenpaar in eine Temperatur von 0—15° C durch mehrere Tage hindurch, wobei ein kontinuierlicher Luftstrom durch die Kolben ging, auf daß die ausgeatmete CO_2 gemessen werden könnte. Hörte die Atmung auf, so hielt der Verf. den Pilz für tot. Hernach kam das Kolbenpaar wieder in einen warmen Raum, um zu sehen ob noch Atmung oder Wachstum auftrete. Es ergaben sich da die Resultate:

1) Der Pilz erfriert schon bei Temperaturen, bei denen weder in der Zelle noch in der Nährlösung Eisbildung bemerkt wurde.

2) Der Kältetod des Myceliums wird sehr verzögert, wenn die Konzentration der Nährflüssigkeit bezw. des Zellsaftes (mittels Zugabe von Glyzerin oder Glukose) erhöht wird. Aufgehoben wird der Tod dadurch aber nicht.

3) Keine unmittelbare Abhängigkeit zeigt sich zwischen der Depressionsgröße der Nährlösung bezw. des Zellsaftes und der Temperatur des Erfrierens.

4) Die Theorie von Müller -(Thurgau) und Molisch vermag das Erfrieren des Pilzes zu erklären, da sie annimmt, daß das Erfrieren mit der Eisbildung im Pflanzengewebe und dem statthabenden Austrocknen des Plasmas in Zusammenhange steht.

Matouschek (Wien).

Hauch, L. A., Die Wirkung des Spätfrostes in jungen Buchenwaldungen. (Forstwiss. Centralbl. Jahrg. 31. 1909. p. 307—322, m. 6 Taf. u. 1 Textfig.)

In der Nacht vom 17. zum 18. V. 1901 trat in manchen Revieren im südöstlichen Teile von Seeland ein schädlicher Spätfrost ein, dessen Einwirkung auf den inneren Bau des Holzes von O. G. Petersen durch anatomische Untersuchungen festgestellt worden ist (in Det forstlige Forsögsvaesen, Bd. 1). Die morphologische Untersuchung der Frostwirkungen studierte nun der Verf. Das Laub und die jungen Triebe der Buchen wurden bis in eine Höhe von 5 m abgesengt. Im Laufe des Sommers entwickelten sich zwar neue Blätter, aber die Reproduktion war nur eine schwache; es bildete sich später ein Bündel von Trieben an den Astspitzen aus. Die Bäumchen machten den Eindruck, als ob sie durch den Frost „gelähmt" wären. Es zeigte sich nämlich auch ein sog. „krauser Wuchs", d. h. der Winkel zwischen den beiden zu Seiten einer Knospe liegenden Stücken ist verhältnismäßig klein, wodurch ein krauses Aussehen eintritt. — Die schönen Photographien zeigen die Wirkungen des Frostes sehr deutlich. — Die Schäden durch den Frost wären nicht aufgetreten, wenn man auf die Terrainverhältnisse bei der Forsteinteilung Rücksicht genommen hätte, wenn Eichen oder Birken als Vorkultur genommen worden wären und wenn die Ausdehnung der Verjüngung über eine längere Periode hin stattgefunden hätte. Man darf den Wald eben nicht zu viel und nicht auf zu große Strecken auf einmal öffnen; der Wind kann dann besser in den Forst streichen.

Matouschek (Wien).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Abderhalden, Emil, Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden Berlin und Wien (Urban und Schwarzenberg) 1909.

Die erste Hälfte des ersten Bandes des von E. Abderhalden herausgegebenen, unter Mitwirkung zahlreicher Mitarbeiter bearbeiteten, Handbuches ist soeben zum Preise von 18 ℳ im Buchhandel erschienen. Die zweite Hälfte des ersten Bandes erscheint in Kürze, während die zwei folgenden Bände, welche das Werk abschließen, bis spätestens zum Herbst erscheinen werden. Die Ausstattung des Werkes ist eine hervorragende; besonderer Wert wurde auf zahlreiche und klare Abbildungen gelegt, von denen der vorliegende Teil schon 527 enthält.

Das Ziel des Handbuches ist, die in der Literatur verstreuten Angaben über biochemische Arbeitsmethoden zu sichten. Es wurde auf eine vollständige Angabe aller in Frage kommenden Methoden verzichtet und den einzelnen Mitarbeitern überlassen, diejenigen Methoden zu beschreiben, welche am sichersten zum Ziele führen. Diese Beschreibung ist eine durchaus kritische, so daß derjenige, welcher die Methoden zum ersten Male anwendet, sich von vornherein ein Urteil über die Fehlergrenzen verschaffen kann. Besonderer Wert wurde darauf gelegt, für die einzelnen Abteilungen Mitarbeiter zu finden, welche die Methoden selbst geschaffen haben oder welche wenigstens durch häufige Anwendung eingehende Kenntnisse auf den bestimmten Gebieten sich erworben haben. Es verbietet sich hier alle Mitarbeiter aufzuzählen, genüge es einige Beispiele zu erwähnen. Das Gebiet der Kohlenhydrate wurde in der Hauptsache von Tollens bearbeitet. Schulze und Winterstein beschrieben die Phosphatide, die Darstellung der Proteine der Pflanzenwelt Osborne, die der Tierwelt. Fr. N. Schulz, Samuely, S. Gies, Straus und Stendel. Der Abbau der Porteine, die Isolierung der Abbauprodukte und die Synthese der Polypeptide wurde vom Herausgeber bearbeitet. Für die Beschreibung des Hämatin wurde Küster, für die des Chlorophylls Willstätten gewonnen. Die Fäulnisbasen behandelte Kutscher, die Fermente im allgemeinen Michaelis und die Oxydasen Chodat. Die Beschreibung der Verdauung lag in den Händen von London E. Zunz und Scheunert, während sich Jacoby und Schittenhelm an der Bearbeitung des intermediären Stoffwechsels beteiligten. Die Methoden der künstlichen Parthenogenesis wurden von Jaeques Loeb, die beim Arbeiten mit Pilzen und Bakterien von Fuhrmann dargestellt. Weiterhin finden sich unter den zahlreichen nicht genannten Mitarbeitern viele von bekanntem Namen. —

Der erste Band bringt im allgemeinen Teil die wichtigen chemischen und physikalischen Methoden, welche die Grundlage der Forschung bilden. Hier werden die Elementaranalyse, die Bestimmung des spezifischen Gewichtes, die Löslichkeit, die Maßanalyse, die der Verbrennungswärme, die optischen Methoden und andere speziellere beschrieben.

Der zweite Band wird durch den Nachweis und die Bestimmung der niederen Alkohole, Aldehyde und Säuren eingeleitet. Es folgt die Darstellung, Bestimmung usw. der Kohlenhydrate, Fette, Phosphatide, der Eiweißstoffe, Nukleïnsäuren, des Hämatins, der Gallenfarbstoffe, der Gallensäuren, des Chlorophylls, der tierischen Farbstoffe, (Melanine) der Bestandteile des Nervengewebes, der Fäulnisbasen, tierischen Gifte, Alkaloide, ätherischer Öle, Saponine und Gerbstoffe.

Der dritte Band behandelt zuerst die Fermente, dann die Verdauung, den intermediären Stoffwechsel, die Stoffwechselprodukte und den Gesamtstoffwechsel. Bei den Fermenten sind beschrieben die allgemeinen Methoden ihrer Darstellung, die zur quantitativen Verfolgung der Fermentwirkung und die Darstellung der Oxydasen und Katalasen. Die Beschreibung der Verdauung zerfällt in die drei Teile: Operative Technik zum Studium der Verdauung und Resorption, Methoden zur Untersuchung der Verdauungsprodukte und des Speichels und Darminhaltes. Der intermediäre Stoffwechsel zerfällt in folgende Kapitel: Fraktionierung von Organen und Darstellung von wirksamen Organextrakten, Durchblutung von Organen, Stoffwechseluntersuchung an überlebenden Organen. Fermente des Kohlenhydrat-Fett-Eiweiß- und Nukleïnstoffwechsels, des intermediären Stoffwechsels mit Einschluß der Untersuchung der Autolyse von Organen. Bestimmung der Atmung tierischer und pflanzlicher Gewebe, physikalische Chemie der lebenden Zellen und Gewebe Unter Stoffwechselprodukten wird behandelt: Nachweis, Bestimmung und Darstellung der Abbauprodukte des Eiweißstoffwechsels und des Nukleïnstoffwechsels im Harn und in der Faeces, Untersuchung der Harnsteine, Bestimmung und Isolierung von Aceton, Acetessigsäure, und β-Oxybuttersäure, im Urin vorkommende auch körperfremde Substanzen. Zum Gesamtstoffwechsel gehören die Methodik des Energiestoffwechsels und der Stoffwechselversuche im allgemeinen. a) an Erwachsenen, b) an Kindern. Anhang an Seetieren. Ein weiterer Anhang bringt die Gasanalyse die Bestimmung der Blutmenge, des Hämoglobins und die Blutkörperchenzählung. Den Schluß bilden die Methoden beim Arbeiten mit sensibilisierenden fluoreszierenden Stoffen, die der künstlichen Parthenogenesis, der Immunitätsforschung und die beim Arbeiten mit Pilzen und Bakterien. —

Das Werk wird mit dazu beitragen, die Methodik bei physiologisch-chemischen Arbeiten zu verbessern und zuverlässigere Resultate zu gewinnen, als das bisher der Fall war. Auch der Pflanzenphysiologe kann aus ihnen zahlreiche Anregungen schöpfen.

H. Pringsheim (Charlottenburg).

Müller, Gustav, Mikroskopisches und physiologisches Praktikum der Botanik für Lehrer. Teil I. Die Zelle und der Vegetationskörper der Phanerogamen. 8°. XVI u. 224 pp. Leipzig (B. G. Teubner) 1907. ℳ 4,80 gebunden. Teil II. Kryptogamen. 8°. XII u. 166 pp. 1908. ℳ 4 gebunden.

Der erste Teil befaßt sich mit dem Mikroskope und der mikroskopischen Technik, mit dem Protoplasten, den Einschlüssen als Erzeugnisse desselben, mit der Zellhaut als Ausscheidung des Protoplasten, mit dem Baue der Phanerogamen (Stamm, Wurzel, Blatt), mit Versuchen mit phanerogamen Pflanzen und mit Ergebnissen experimenteller Forschung.

Der zweite Teil interessiert uns hier mehr. Es werden alle Familien der Kryptogamen besprochen. Bei den Hyphomyceten legt der Verf. Gewicht auf den Bau und die Ernährungsweisen derselben. Die in der Technik verwertbaren und anderseits die schädlichen Pilze können kaum besser dargestellt werden. Den Bakterien ist ein breiter Raum gewidmet. Es werden in durchaus richtiger Weise folgende Themata behandelt: Morphologische Formen des Vegetationskörpers, Untersuchung des Zahnschleimes, Zoogloea, Kahmhaut, der feinere Bau der Bakterien, die Herstellung von Präparaten, der Entwicklungskreis der Bakterien, die Bewegungserscheinungen, der Stoffwechsel (Versuche, die verschiedenen Gruppen der Bakterien, Kreislauf des Stickstoffs), die Schutzimpfung und Serumtherapie, Reinkulturen, der Nachweis der Bakterien in Boden, Luft und Wasser, die physikalischen Lebensbedingungen (Desinfektion, Asepsis, Antisepsis).

Das Hauptgewicht legte der Verf. stets auf gute Musterbeispiele, auf klare Darstellungsweise, auf die in der Praxis brauchbaren Momente und auf gute Abbildungen. Letztere wiederholen sich zwar — wäre es nicht angezeigt, statt der Wiederholungen neue Bilder einzuschieben? Das Buch ist für den Lehrer geschrieben; er findet auch wirklich alles, was er für den Unterricht in Mittelschulen braucht, in dem Werke. Alles natürlich in ihm finden zu wollen — ist ein Ding der Unmöglichkeit; aber es ist stets Rücksicht genommen auf solches Material, das leicht beschaffen werden kann und auf solche Versuche, die mit wenig Geld ausführbar sind. Auch die neuere Forschung ist stets berücksichtigt worden. — Das Werk hat nicht seinesgleichen, da es, was bei ähnlichen Büchern nicht der Fall ist, auch die Kryptogamen ausführlich behandelt. — Die Illustrationen sind recht gute.

Matouschek (Wien).

Welleba, Fr., Anleitung zur Mikroskopie und Mikrophotographie für Anfänger. V. u. 78 pp. m. 70 Illustr. u. 7 Tab. Wien (A. Pichlers Witwe u. Sohn) 1908.

51 Seiten des Schriftchens behandeln das Mikroskop mit seinen Nebenapparaten und die Herstellung von Präparaten. Der zweite Teil handelt von der Photographie. Zum Schlusse folgen Literaturangaben, Tabellen und zwölf Wiedergaben von schönen mikroskopischen Originalnegativen, wie überhaupt die Illustrationen recht gut gelungen sind.

Matouschek (Wien).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Abel, R., und **Ficker, M.**, Einfache Hilfsmittel zur Ausführung bakteriologischer Untersuchungen. 2. Auflage. Würzburg. (A. Stuber) 1909.

Die in Taschenformat gehaltene Schrift gibt Anleitungen, kleine bakteriologische Laboratorien mit einfachen Mitteln einzurichten und zu betreiben.

Matouschek (Wien).

Tigerstedt, R., Handbuch der physiologischen Methodik. 3 Bände zu je 3 Abteil. Leipzig (S. Hirzel) 1908 ff.

Eine gediegene Zusammenstellung aller in der so großen biologischen Literatur zerstreuten Beschreibungen der physiologischen Arbeitsmethoden behufs leichterer Benützung und größerer Übersicht. Daher war eine Arbeitsteilung auf dem so großen Arbeitsfelde nötig. Der erste Band soll laut Prospektes die allgemeine Methodik, Protisten, Evertebrata, physiologische Chemie und Ernährung, der zweite das Blut und dessen Bewegung, Atmung, Verdauung und Muskelphysiologie, der dritte die Physiologie der Sinnesorgane und des Cerebrospinalsystems sowie die Psychophysik und die Phonetik behandeln. Erschienen sind bisher Bd. 1, Abt. 2, Bd. 2, Abt. 1 und 2. Also es folgen die Abteilungen nicht hintereinander.

Matouschek (Wien).

Artari, A., Der Einfluß der Konzentration der Nährlösungen auf das Wachstum einiger Algen und Pilze. III. (Pringsheims Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. 46. 1908/9. p. 443—453.)

Frühere Versuche des Verf. haben vermuten lassen, daß die optimale Konzentration der Glukose durch ihre osmotische Wirkung erklärt werden kann. Um diese Frage zu entscheiden, wurde versucht, die osmotische Wirkung der Glukose durch einen anderen Stoff von gleicher osmotischer Wirkung aber ohne Nährwert zu ersetzen; dazu wurde Magnesiumsulfat verwendet (8 g $MgSO_4$ entsprechen 6 g Glukose).

Die Versuche mit Chlorella communis ergaben, daß das Wachstum in der optimalen Nährlösung plus Zusatz von 6 g Glukose bezw. 8 g $MgSO_4$ im Vergleich mit der optimalen Nährlösung in gleichem Grad verzögert wird; es ist also sicher, daß der Grenzwert der optimalen Konzentration der Glukose durch ihre osmotische Wirkung bedingt wird.

Weitere Versuche wurden mit dem Hefepilz Pichia membranaefaciens angestellt. Dieser Pilz verträgt sehr starke Konzentrationen; er wächst sowohl in schwachen als in starken Lösungen sehr gut. Das Wachstum geht in einer Nährlösung mit mehr als 10 Proz. Glukose anfangs langsam vor sich, wird aber später energischer. Erhöhung der Temperatur um 7 bis 10° verschiebt die Grenzkonzentration nach oben. Auch mit diesem Pilz wurde der oben angedeutete Versuch — die osmotische von der Nährwirkung zu trennen — angestellt, und ergab ähnliche Resultate. Das Wachstum wird mit der Erhöhung der Konzentration der Glukose beschleunigt; aber diese Beschleunigung findet nur bis 10 Proz. statt, in den stärkeren Lösungen wird das Wachstum langsamer, da die osmotischen Eigenschaften der Glukose es hemmen. Bemerkenswert ist die allmähliche aber relativ rasche Anpassung des Pilzes an die starken Glukoselösungen.

Neger (Tharandt).

Densch, Über die Genauigkeit bei der Bestimmung verschiedener Stickstoffformen in Bodenauszügen. (Nachtrag.) (Mitteil. a. d. Kaiser Wilhelms-Institut f. Landwirtschaft in Bromberg. Bd. 1. 1909. Heft 4. p. 402.)

In einer früheren Arbeit über denselben Gegenstand[1]) kam der Verf. zu dem Schluß, „daß die bisher gebräuchlichen Methoden für die Bestimmung des Ammoniak- und Gesamtstickstoffs vollkommen genügen, daß dagegen Salpeter- und organischer Stickstoff einander beeinflussen, so zwar, daß die Bestimmung des Salpeterstickstoffs durch Reduktion und Destillieren mit Natronlauge infolge Abspaltung von organischem Stickstoff zu hohe Werte liefert, während wiederum bei der Bestimmung des organischen Stickstoffs nach Kjeldahl infolge der Einwirkung von Nitrat- oder Nitritstickstoff für ersteren zu wenig gefunden wird.“ Im vorliegenden Nachtrag bringt er die Resultate der Nachprüfung einer Methode von Warington, nach welcher der organische Stickstoff durch Eindampfen unter Zusatz von Eisenoxydulsalz und Schwefelsäure und Aufschließen nach Kjeldahl-Wilfarth bestimmt wird. Die Bestimmungen wurden in Boden- und Kompostauszügen vorgenommen und ergaben günstige Resultate. Nach den Feststellungen des Verf. ist es bei einer einwandfreien Verfolgung der Stickstoffumsetzungen im Boden nötig, die einzelnen Bestimmungen folgendermaßen vorzunehmen:

1) Gesamtstickstoff durch Reduktion nach Ulsch (nach vorheriger Oxydation event. vorhandenen Nitrits mit $KMnO_4$) und Aufschließen nach Kjeldahl.

2) Ammoniakstickstoff durch Destillation mit Magnesia usta.

3) Organischer Stickstoff durch Aufschließen nach Kjeldahl unter Zusatz von Ferrosu fat.

4) Salpeterstickstoff durch Abzug des Ammoniak- und organischen Stickstoffs vom Gesamtstickstoff.

Versuche, das Ammoniak mit Magnesia usta zuerst abzudestillieren und im Rückstand nach Zusatz von Ferrosulfat den organischen Stickstoff zu bestimmen, gaben zu hohe Werte für letzteren. Zeller (Bernburg).

Magnus, Die Erkennung von Mehlverfälschungen durch die serumdiagnostische Methode. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. 38. Ergänzungsband V. 1909. p. 207.)

Verf. stellt sich aus pflanzlichem Material durch Extraktion mit 0,9 Proz. Kochsalzlösung während 12 Stunden Lösungen her, die nach ausreichender Filtration mit etwas Sodalösung alkalisch gemacht, und dann zur Injektion von Kaninchen, und zwar subcutan, verwendet werden. Zu beachten ist, daß da die Tiere auch verschieden individuell reagieren, stets drei Kaninchen benutzt werden müssen. Das nach frühestens sechs Tagen gewonnene Serum kann dann mit einem aus der zu untersuchenden Pflanzensubstanz mittels physiologischer Kochsalzlösung erhaltenen Extrakt versetzt, und die entstehende Trübung beobachtet werden. In Kontrollserum darf dabei natürlich nicht etwa ein ähnlicher Niederschlag auftreten.

Verf. glaubt mit seinem Verfahren wenig verwandte Mehle, wie z. B. Weizenmehl auf seinen Gehalt an Mehl von Vicia faba, mit Sicherheit prüfen zu können. Aber auch bei nahe verwandten Mehlen, wie z. B. Roggen-

---

[1]) Vgl. Referat in Centralbl. f. Bakteriol. usw. II. Abt. Bd. 22. p. 420.

und Weizenmehl, meint er Gehalte bis fallend zu drei Proz. richtig zu ermitteln. Immerhin hofft er, daß die Einzelheiten der Methodik noch verbesserungsfähig sein werden. Er zieht den Schluß, daß das serumdiagnostische Verfahren für die Untersuchung pflanzlicher Produkte ebensogut anwendbar ist, wie bei der biologischen Methode der gerichtlichen Blutuntersuchung oder bei der Untersuchung tierischer Nahrungsmittel.

Ehrenberg (Breslau).

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Pleißner, Über die Messung und Registrierung des elektrischen Leitvermögens von Wässern mit Hilfe von Gleichstrom. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 30. 1909. p. 483.)

Die Verff. haben einen neuen Apparat konstruiert, welcher die Schwankungen des elektrischen Leitvermögens des Wassers selbsttätig bestimmt und fortlaufend registriert. Bei einem Versuch in der Schunter bei Querum, das die Endlaugen des Kaliwerkes Beienrode führende Flußwasser fortdauernd zu kontrollieren, hat sich der Apparat, wie in der ersten Arbeit mitgeteilt wird, sehr gut bewährt. Die mittelst des Registrierapparates erhaltenen Werte stimmten mit den nach der sonst üblichen Methode der Leitfähigkeitsbestimmung nach Kohlrausch erhaltenen gut überein. Gegenüber den Ergebnissen nach der Kohlrauschschen Methode berechnete sich der mittlere Fehler des Apparates auf etwa 2,5 Proz. Die in derselben Zeit ausgeführten Chlorbestimmungen gingen in allen wesentlichen Punkten mit der durch den Registrierapparat erhaltenen Kurve zusammen. Die Verwendbarkeit des Apparates ist nicht nur auf Flußverunreinigungen durch Abwässer mit anorganischen Bestandteilen beschränkt, sondern er kann wohl auch wertvolle Dienste leisten bei Überwachung von Flüssen, welche durch andere Schmutzwässer verunreinigt werden, sowie zur Kontrolle von Wasserversorgungsanlagen, indem er auch auf plötzliche, eventuell rasch vorübergehende Veränderungen in der Zusammensetzung des Wassers aufmerksam macht und unter Umständen wertvolle Hinweise gibt für den richtigen Zeitpunkt der bakteriologischen und speziell der chemischen Untersuchung des Wassers. Bei Überwachung von Filteranlagen soll und kann der Apparat natürlich die fortlaufende bakteriologische Kontrolle nicht ersetzen; dieselbe müßte in diesen Fällen wie bisher regelmäßig nebenhergehen.

In der zweiten Arbeit gibt P. eine eingehende Beschreibnng des Apparates, des Meßverfahrens, sowie ausführliche Anleitung zur Handhabung des Registrierapparates und der Berechnung des spezifischen Leitvermögens.

Haendel (Gr.-Lichterfelde).

Peglion, V., Su la lotta contro alcune avversita delle piante erbacee. (Annali Società d. Agricultori, Bologna. 1908. 21 pp.)

Verf. empfiehlt das Abbrennen der Grasfelder nach der Ernte (debbio) und die Brache (maggése) als die besten Mittel zur Erholung der durch Mikroorganismenwucherung müde gewordenen Böden. Diese Operationen müssen bei kalkarmen Böden durch eine reichliche Kalkdüngung ergänzt werden.

E. Pantanelli (Rom).

Eberts, Die Reinigung der Gewässer und der Fischteiche. (Forstwiss. Zentralbl. Jahrg. 31. 1909. p. 52—55.)

Nach einleitenden Worten bespricht Verf. den Vortrag von Hofer-

München, (gehalten in der Hauptversammlung des Deutschen Fischereivereins, Juli 1908) über das Selbstreinigungsvermögen des Wassers. Hofer führte aus: Die Anlage von Rieselfeldern kann immer nur in beschränktem Maße erfolgen. Die biologisch wirkenden Tropfkörper sind teuer. Ausgezeichnete Reinigungsanlagen sind die einfachen Erdteiche, die sogenannten Karpfenteiche. Denn sie kosten wenig, sie geben sogar Fische; $^1/_5$ ha solcher Teiche vermag, wie Versuche lehrten, die Abwässer von 300 Personen anstandslos durch normale Selbstreinigung ohne Eintritt irgendwelcher umfassender Fäulniserscheinungen zu bewältigen. Die Selbstreinigungskraft eines Karpfenteiches ist also um 10—15 mal höher, als die einer gleichen Fläche Landes, das als Rieselfeld verwendet wird. Im letzteren wirken wohl nur die Bakterien und andere Pilze, im Teiche aber auch die lebenden Organismen, deren es eine große Menge hier gibt. Selbst die Abgänge größerer Städte könnten wohl in Fischteichen beseitigt werden. Daher empfiehlt Hofer die Anlage von Karpfenteichen. Matouschek (Wien).

Renezeder, Heinrich, Einiges aus dem Kreislaufe der Materie: Reinigung und Verwertung städtischer Abwässer. (Schrift. d. Ver. z. Verbreitung naturwissenschaftl. Kenntnisse in Wien. Bd. 48. 1908. p. 77—116.)

Interessante Vergleiche der Abwässer größerer und großer Städte (London, Wien, Leipzig, Frankfurt usw.). Genaue Erläuterung der beiden Methoden: Klärverfahren und biologisches Verfahren. Besondere Berücksichtigung der Anlagen von Mödling, Wiener-Neustadt und Baden in N.-Österreich. Auf diese beziehen sich die Bilder. Matouschek (Wien).

Bokorny, Th., Chemische Konservierungsmittel. (Naturwiss. Wochenschr. 1909.)

Wie bekämpft man die Bakterien bei Nahrungsmitteln?

Diese wichtige und sehr aktuelle Frage beschäftigt immer noch die Kreise der Nahrungs- und Genußmittelfabrikanten aufs Lebhafteste, da ja die Haltbarkeit der Speisen und Getränke bei der Aufbewahrung derselben eine erste Rolle spielt.

Nur solche Stoffe dürfen den Nahrungs- und Genußmitteln zum Zwecke der Konservierung zugesetzt werden, von welchen durch Erfahrungen am Menschen und durch Tierexperimente nachgewiesen ist, daß sie in den für die Konservierung nötigen Mengen bei lange fortgesetztem Gebrauch keine schädlichen Wirkungen auf den Körper auszuüben imstande sind. Konservierungsmittel, welche nach Art und Menge nicht als harmlos für den menschlichen Körper angesehen werden können, dürfen zu Lebensmitteln nur dann gesetzt werden, wenn sie keine bleibenden schädlichen Veränderungen an dem Lebensmittel selbst hervorrufen, auf einfache und sichere Weise wieder ausgeschieden werden können und leicht nachweisbar sind (internat. Kongreß f. Hygiene in Berlin 1907, Referat von M. Gruber, K. B. Lehmann und Th. Paul). Immer hat eine unzweideutige Deklarierung zu erfolgen.

Bezüglich der Benzoësäure hat K. B. Lehmann schon 1907 in Berlin (a. a. O.) hervorgehoben, daß sie in Vegetabilien häufig gefunden wird und in Preißelbeeren (O. Loew) 600—800 mg pro 1 kg beträgt. Sie ist neuerdings ein wichtiges Konservierungsmittel geworden (namentlich in den Vereinigten Staaten), wird in vielen Fleischkonservesalzen gefunden; für Milch sind benzoësaure Salze empfohlen worden. Die antibakterielle Kraft ist (nach Fleck, Kickton), jener der Salicylsäure überlegen, ihre Schädlichkeit geringer als die der Salicylsäure. Eingehende Untersuchungen in dieser Richtung erschienen freilich noch wünschenswert.

Hierüber hat nun Prof. Dr. K. B. Lehmann, Vorstand des hygienischen Instituts zu Würzburg in der Chem. Ztg., 30. Sept. 1908 neue Forschungen mitgeteilt.

Die Bestimmung der Benzoësäure geschieht entweder durch Verflüchtigen der Benzoësäure mit den Wasserdämpfen oder durch Auflösen in Äther und Petrol-Äther.

Ihre konservierende Wirkung ist so stark, daß sie schon bei 0,2 Proz. Bakterien (Typhus- und Cholera-) abtötet binnen 10 Stunden, während 0,2 Proz. Salicylsäure das nicht ganz regelmäßig tut. Benzoësäure und Salicylsäure wirken aber bei 0,05 Proz. Verdünnung noch nicht voll entwicklungshemmend auf die genannten Bakterien in schwach alkalischer Bouillon, bei 0,01 Proz. beginnt die Wirkung. Die alkalische Reaktion der Versuchsflüssigkeit läßt freilich einen Schluß auf noch stärkere Wirkung der Benzoësäure zu, da durch das Alkali die Benzoësäure abgeschwächt wird. Freie Benzoësäure ist schon bei 0,1 Proz. ausreichend, um die Gärung der Bierhefe eine Woche lang vollkommen hintanzuhalten (länger wurde nicht beobachtet), Salicylsäure zu 0,1 Proz. zugesetzt zeigt am fünften Tage volle Kohlensäureentwicklung. Das benzoësaure Natron wirkt schwächer als die freie Säure. Gegenwärtig wird die Benzoësäure in der Praxis viel zum Konservieren gebraucht.

Der Kampf gegen die Salicylsäure und ihr vielfaches Verbot scheint der Benzoësäure Platz gemacht zu haben. In Fruchtpräparaten wird sie nicht selten beobachtet; auch Konservesalze für Fleisch enthalten häufig Benzoësäure und Benzoate.

Bezüglich der Schicksale der Benzoësäure im Organismus hebt Lehmann zunächst hervor, daß im Stoffwechsel der meisten Säugetiere Benzoësäure bezw. Hippursäure als normales Glied im Stoffwechsel vorkommt. Auch bei reiner Fleischkost entsteht im Hund (angeblich nicht im Menschen) Benzoësäure, die an Glykokoll gebunden und als Hippursäure ausgeschieden wird. Der Pflanzenfresser scheidet sehr reichliche Mengen von Hippursäure aus, da sein Futter reich an Benzoësäure liefernden Benzolderivaten ist. Eingeführte Benzoësäure scheidet auch der Fleischfresser und der Mensch als Hippursäure aus, solange die Benzoësäuremenge nicht zu groß ist; die Synthese findet in der Niere statt, ja es werden extra große Mengen Glykokoll im Stoffwechsel gebildet, um die Hippursäurebildung gegebenen Falles zu ermöglichen. Bei großen Benzoësäuredosen ist aber selbst das starke Hippursäurebildungsvermögen des Hammels ungenügend, es tritt ein Teil der Benzoësäure als Glykuronsäureverbindung auf, der Rest bleibt ungepaart. 12—15 gr benzoësaures Natron vermag ein gesunder Mensch glatt in Hippursäure zu verwandeln; bei größeren Dosen geht ein Teil der Benzoësäure unverwandelt in die Ausscheidung über.

Nach Husemann-Hilger kommt der Benzoësäure eine nicht sehr starke irritierende und anscheinend auch eine excitierende Wirkung zu. Ihr Dampf bedingt Husten und Katarrhe der Atmungswerkzeuge. In großen Dosen wirkt sie auf Tiere giftig, während ziemlich hohe Gaben der Säure oder der Benzoate bei Menschen nur unbedeutende oder gar keine Beschwerden erregen. Übrigens können nur lang andauernde Experimente am Menschen definitive Entscheidung bringen.

L. hält es für möglich, daß kleinere Mengen Benzoësäure auch bei dauerndem Genuß ganz unschädlich gefunden werden, so daß dann kein hygienisches Bedenken vorliegt, die deklarierte Anwendung der Benzoësäure für besondere Fälle zu gestatten.

Für Fruchtsaftkonservierung sind namentlich Salicylsäure und Ameisensäure vorgeschlagen, beide aber auch bekämpft worden. Die Borsäure sollte wohl für Fleischkonservierung wie auch für Fruchtsäfte anderen besseren Mitteln weichen, da sie erst bei 1 : 100 antiseptisch, bei 1 : 200 desinfizierend wirkt. Salicylsäure ist bei 1 : 1100 ein Antiseptikum; sie verhindert z. B. die Entwicklung von Fäulnisbakterien im Fleischwasser, ohne sie zu töten; bei Verdünnung aufs Zwei- oder Dreifache tritt sehr bald Fäulnis ein. Ein Desinfektionsmittel ist die Salicylsäure für die in der Luft enthaltenen beim Fleischwasserversuch in Betracht kommenden Bakterien in der Konzentration 1 : 343, d. h. Fleischwasser gerät, wenn es offen an der Luft steht und somit die Fäulnis bakteriender Luft Zutritt haben, nicht in Fäulnis, wenn es 1 Teil Salicylsäure auf 343 Teile Wasser enthält, und die hineingefallenen Bakterien sind nie mehr imstande, sich zu vermehren, sie haben ihre Teilungsfähigkeit verloren, man kann mit solchen Bakterien keine fäulnisfähige Lösung mehr infizieren.

Die Salicylsäure ist nach Eduard Jakobsen (Zeitschr. f. Kohlensäure-Industrie 1907) das beste Konservierungsmittel für Fruchtsäfte. Wendet man eine Konservierung mit Salicylsäure oder Ameisensäure nicht an, so gibt es nur ein Mittel und das ist die sofortige Einkochung der Säfte mit Zucker, was bei kleinen Quantitäten wohl möglich, im Großen aber wegen der kolossalen Raumbedürfnisse und der damit verknüpften Kosten nicht durchführbar ist. Salicylsäure ist für Fleisch und Wein verboten, auch bei Fruchtsaftkonservierung sind schon gerichtliche Strafen ausgesprochen worden. Eine Gesundheitsgefährdung durch Salicylsäure im Fruchtsaft ist aber nach Jakobsen bis heute incht nachgewiesen, die Fruchtsirupe enthalten nur 0,01 bis 0,017 Proz. Salicylsäure. Dabei ist auch zu bedenken, daß die Natur selbst in den Früchten bisweilen kleine Mengen Salicylsäure erzeugt; so wurden in Weintrauben 0,32 mg pro kg Früchte, in Pflaumen 0,28 mg, Kirschen 0,40, Johannisbeeren 0,20 mg Salicylsäure pro kg gefunden.

Auch die Ameisensäure, die in den letzten Jahren viel zur Konservierung von Fruchtsäften und Fleisch angewandt wurde, dürfte wohl von demselben Schicksal wie die Salicylsäure betroffen werden. Denn das Institut für Infektionskrankheiten in Berlin hat im ministeriellen Auftrag Untersuchungen über die konservierende Wirkung und die giftigen Eigenschaften der Ameisensäure angestellt; es hat sich dabei gezeigt, daß dieselbe sowohl ein ätzendes Gift (das natürlich nur in stärkerer Konzentration, B.) wie auch ein Blutgift ist. Wer jemals physiologische Versuche mit Ameisensäure an lebenden niederen Organismen angestellt hat, wird von der Giftigkeit dieser Substanz überzeugt sein; freilich ist damit noch nicht die hohe Giftigkeit bei Tieren und dem Menschen nachgewiesen. Es ist möglich, daß kleine Mengen innerlich genommen nicht schädlich wirken. Lebbin hat durch Tierversuche nachgewiesen, daß Dosen von 2—3,57 Proz. Ameisensäure schädlich wirken (auf die Nieren); in der Praxis werden aber nur 0,1—0,5 Proz. angewandt. Versuche an Menschen (4 Männern) haben ergeben, daß trotz 4 Wochen langem Trinken von Limonade, die aus Himbeersaft und Leitungswasser und 1 gr Ameisensäure pro Liter hergestellt war, niemals Nierenaffektion eintritt; die täglich genossene Menge Ameisensäure beträgt hier sicher min-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

destens ½ gr. Der tägliche Genuß von 0,5 gr Ameisensäure würde folgenden Saftmengen im Leben entsprechen: Bei Zugabe von 0,15 Proz. Ameisensäure zum Muttersaft und 60 Proz. Zucker bei der Sirupbereitung würden 0,06 Proz. Ameisensäure im fertigen Sirup enthalten sein, wenn beim Einkochen keine Säure verloren geht. Von diesem Syrup enthalten dann 0,8 kg erst 0,48 gr (Jakobsen). In dieser Menge wird aber der Sirup nicht konsumiert; folglich kann ein Zusatz von 0,15 Proz. Ameisensäure, welche Menge zur Konservierung ausreicht, nicht schädlich sein. So folgern die Fruchtsaftfabrikanten. Da aber individuelle Verschiedenheiten in der Widerstandskraft gegen Gifte immer beobachtet werden, so dürfte jener Schluß nicht ganz sicher sein.

Immerhin kann man aus den angeführten Dingen wohl entnehmen, daß ein voller Ausschluß aller chemischen Konservierungsmittel kaum Platz greifen dürfte, sind doch Kochsalz, Salpeter, Essig, Alkohol, auch chemische Konservierungsmittel; an die Beseitigung dieser letzteren wird aber wohl kein Mensch denken. Die Umstände machen eben manchesmal eine chemische Konservierung nötig. Man darf nicht glauben, daß irgend ein chemisches Konservierungsmittel völlig unschädlich sei; sogar Kochsalz schädigt einen empfindlichen Verdauungsapparat, wenn es in erheblicher Menge zugesetzt ist, noch mehr der Salpeter, der im Darm unter Umständen in die giftige salpetrige Säure verwandelt werden kann. Essig ist wie alle Säuren von einem gewissen Maße an schädlich usw.

Auch die Konservierung des Bieres beruht bekanntlich zum Teil auf chemischen Mitteln, indem gewisse Hopfenbestandteile eine antiseptische Wirkung besitzen, d. h. die Bakterienentwicklung hemmen. Daneben wirkt freilich die niedere Temperatur des Eiskellers als mächtiges Konservierungsmittel. Die Kälte ist ja überhaupt das idealste aller Mittel zur Reinerhaltung von Nahrungs- und Genußmitteln, sie wird auch überall angewandt, wo es die Umstände erlauben. Auf weitere Konservierungsmethoden, wie Erhitzen und luftdichtes Einschließen, Austrocknen usw. einzugehen, erlaubt die in der Überschrift des Aufsatzes gezogene Grenze nicht. Im allgemeinen sei nur noch gesagt, daß verschiedene Nahrungs- und Genußstoffe auch verschiedene Konservierungsmittel verlangen, und daß die chemische Konservierung wohl nicht ausgeschlossen werden kann. Autoreferat.

Boehnke, Karl Ernst, Über die Einwirkung einiger sogenannter Präservesalze auf Hackfleisch. (Hygienische Rundschau. 1909. No. 7.)

Verf. wollte durch Versuche feststellen, ob einigen neueren Konservierungsmitteln die in der Reklame behauptete Wirkung zukomme. Das Hackfleisch wurde zu diesem Zwecke im Laboratorium durchaus sauber hergestellt. Die einzelnen mit den Mitteln versehenen Proben wurden offen in einer Petrischale verschieden lange Zeit aufbewahrt sowohl bei Zimmertemperatur als auch im Eisschrank. Dann wurden 5 g jeder Probe in 195 ccm physiologischer Kochsalzlösung verarbeitet und hiervon Gelatineplatten angefertigt.

Das aus Natriumphosphat, Natriumacetat und Aluminiumphosphat bestehende Konservesalz Borussia hat in der vom Fabrikanten angegebenen Stärke kaum nennenswerten konservierenden Einfluß, sondern erst bei doppelt so starkem Zusatz. Es leistet weniger als die Konservierung durch Kälte.

Das vorzugsweise aus Dinatriumphosphat, Natriumbenzoat und bas.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Aluminiumacetat bestehende Carvin zeigte eine konservierende Wirkung erst bei Anwendung doppelt so großer, als für den Schlächter vorgeschriebener Dosen und auch nur auf höchstens 24 Stunden.

Das H. C. S. benannte, zur Hälfte aus Salz und Zucker bestehende Präparat bewahrt nur länger den rötlichen Farbenton des Fleisches, das durch Quellung seiner Fasern infolge der Kochsalzwirkung wässerig wird. Nur in hohen Dosen übertrifft es die Wirkung der Kälte bis zu 6-stündiger Dauer. Bei 24 Stunden konserviert die Kälte aber bedeutend besser. In den vom Fabrikanten vorgeschriebenen Dosen versagt das Präparat nach 24 Stunden völlig. Sachs-Müke (Beuthen-O.-S.).

Ficker, M., Über die Bedeutung indifferenter Stoffe bei der Salizylkonservierung. (Arch. f. Hyg. Bd. 69. 1909. p. 54).

Verf. hat eine Reihe von Versuchen angestellt, um die Beeinflussung der desinfektorischen oder entwicklungshemmenden Wirkung des salizylsauren Natrons durch Zugabe von Rohrzucker, Glyzerin oder Kochsalz festzustellen. Er fand dabei im wesentlichen folgendes: Zusatz von 10 Proz. Glyzerin zur nicht salizylierten Rohmilch schiebt die Gerinnung um 1 Tag, der von 20 Proz. um 3 Tage hinaus;bei Zusatz von 20 Proz. Glyzerin + 0,5 Proz. Natr. salizyl. ist die Milch nach 19 Tagen noch nicht geronnen. Bei Zusatz von 40 Proz. Glyzerin + 0,3 Proz. Natr. salicyl. zeigte sich die Milch noch nach 4 Wochen ungeronnen.

In jedem Falle wirkt das Salicylpräparat in Verbindung mit dem Glyzerin stärker konservierend als jedes für sich. Ein Rohrzuckergehalt von 20 Proz. beeinflußt die Keimzahl nur wenig, dagegen verzögert der Gehalt von 30 und 40 Proz. die Gerinnung um 1 Tag. Beim Zusammenwirken von Rohrzucker und salicylsaurem Natron weist schon die mit 20 Proz. Rohrzucker versehene Milch eine solche Entwicklungshemmung auf, daß sie erst nach 10 Tagen gerinnt. In der Milch mit geringerem Zuckerzusatz macht sich die entwicklungshemmende Wirkung des Salicylsalzes zunächst nur wenig geltend, um dann aber ebenso stark und lange anzuhalten wie in den größere Zuckerquanten enthaltenden Salicylmilchen. Es wird also schon durch relativ niedrige Zuckerprozentsätze die konservierende Fähigkeit des Salicylpräparates gesteigert, was für die Beurteilung der hygienischen Seite der Salicylwirkung nicht unwichtig ist.

Bei den Versuchen mit Kochsalz zeigte sich, daß Kochsalz an und für sich schon beträchtlich konserviert; Zusatz von 0,3 Proz. Natr. salicyl. erhöhte aber auch hier die konservierende Wirkung.

Bei der Prüfung einiger Milchbakterien (B. lactis aërogenes und B. acidi lact. Hueppe) in Reinkultur in steriler Milch unter gleichen Bedingungen zeigte sich ebenfalls die gleiche Erhöhung der konservierenden Wirkung durch Kombination.

Zum Schluß hat Verf. dann noch Versuche mit Reinkulturen von B. coli und Cholera angestellt, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann.

Für die praktische Seite geht aus den Versuchen hervor, daß die Salicylverbindung zwar eine Entwicklungshemmung, manchmal wohl auch eine Tötung von Mikroorganismen herbeiführen kann, daß diese Wirkung aber stark durch an und für sich indifferente Mittel beeinflußt werden kann. Verf. hält es sogar für möglich, auch bei Verwendung und Kombination indifferenter

Stoffe eine ausreichende Konservierung bestimmter Nahrungsmittel herbeizuführen und dadurch die als gesundheitsschädlich zu bezeichnenden Konservierungsmittel entbehrlich zu machen. Schuster (Posen).

Ozonierung des Cuxhavener Fischmarktes (Fischindustrie. 1909. No. 9. p. 132.)

Zur Verbesserung der Luft in den Fischhallen sind mit den Siemens-Halskeschen Ozonisatoren Versuche angestellt worden, die einen guten Erfolg gezeitigt haben. Durch Einleiten von Ozon in die Fischhallen ist es gelungen, den besonders in der wärmeren Jahreszeit lästigen Fischgeruch zu beseitigen. Man verspricht sich weiter noch einen günstigen Einfluß von der desinfizierenden Wirkung des Ozons auf die Fäulnis bewirkenden Bakterien und somit eine längere Frischhaltung des Fischfleisches.

Wedemann (Groß-Lichterfelde).

Hiltner, Die Beeinflussung des Wachstums der Pflanzen durch Bespritzung oder Bestäubung. (Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz. Jahrg. 7. Heft 2, 3 u. 5. 1909.)

Die Beobachtung, daß die Chlorose der Reben, soweit sie auf den Einfluß des zu hohen Kalkgehalts des Bodens zurückzuführen ist, durch Zufuhr von Eisensalzen behoben werden kann, gab Verf. Veranlassung zu Versuchen, mergelkranke Lupinen durch Bespritzung mit Eisensulphatlösung zu normalem Wachstum zu bringen. Das Ergebnis mehrmaliger Bsepritzungen mit ½—1proz. Lösung war eine vollständige Beseitigung der Krankheit. Auch andere kalkempfindliche Pflanzen wie Ulex lathirus, Erbsen und Wicken zeigten ein besseres Wachstum und lebhafteres Grün. Bei nachfolgender Bespritzung mit Kalkmilch wurden die Lupinenpflanzen wieder chlorotisch. Neben günstigen wurden auch schädliche Wirkungen des Eisensulfats beobachtet, so bei Cichorie und Galium mollugo. Das überschüssige Eisensalz wirkt in diesem Fall hemmend auf den ganzen Stoffwechsel und konnte durch Behandlung mit Kalkmilch paralysiert werden

Auch bei Senf, Hafer und Kartoffeln wurden entsprechende Bespritzungen mit Eisensulfat ausgeführt und zwar nach vorangegangener Düngung eines Teiles der Pflanzen mit Kalksalpeter. Das Resultat war bei Senf, daß auf der gedüngten Parzelle selbst die Bespritzung mit ½proz. Eisenvitriollösung eine schädliche Wirkung ausübte. Bei Kartoffeln wirkten ebenso selbst niedere Konzentrationen sowohl auf gedüngten wie ungedüngten Parzellen schädlich. Hier kommt also anscheinend eine Kalkwirkung nicht in Frage.

Ein letzter Versuch wurde schließlich auf stark kalkhaltigem Boden mit einer gesunden und einer dicht danebenstehenden blattrollkranken Kartoffelsorte ausgeführt. Es wurden Pflanzen 1—2mal bespritzt mit verdünnten Lösungen bezw. Brühen von Kalksalpeter, Kainit, schwefelsaurer Magnesia, Kalkmilch, Kupferkalkbrühe, Humus, Kupferhumus und Eisenvitriol. Ermittelt sollte werden 1) ob die Bespritzung im allgemeinen und insbesondere bei den blattrollkranken Pflanzen einen Einfluß ausübe; 2) ob es möglich sei, das Verhältnis von Kalk und Magnesia, das nach der bekannten Theorie von O. Löw für jede Pflanzenart ein ganz bestimmtes sein muß, wenn sie gut gedeihen soll, vielleicht durch Bespritzung herzustellen; 3) wie die Bespritzung mit Humus und einer Humuskupferbrühe im Vergleich zu jener mit Kalk und der Kupferkalkbrühe sich bewähre. Die Ergebnisse waren folgende:

Im Gegensatz zu Kupferkalkbrühe erweist sich eine Kupferhumusbrühe als erheblich wirksamer. Stärke und Knollenertrag waren bei Pflanzen, die mit Kupferhumusbrühe behandelt waren, wesentlich höher als solche, die mit Kupferkalk gespritzt waren. Verf. erklärt diese Erscheinungen einerseits durch die Wirkung der Humusbrühe für sich, die der von Kupferkalkbrühe allein nahezu gleichkommt, andererseits durch die große Haftbarkeit der Humusbrühe, bedingt durch ihre kolloidale Beschaffenheit. Die Eisenvitriolbespritzungen wirken schädlich. Kalksalpeter- und schwefelsaure Magnesialösungen hatten geringe Steigerung der Knollenerträge zur Folge. Überraschend günstig waren die Resultate mit Kainit.

Schaffnit (Bromberg).

B., L., Note sur quelques ennemis du Cocotier et du Théier à Ceylan. (Journ. d'Agric. trop. VIII. 1908. p. 254—256.)

Infolge eines Zyklones zeigte sich in Batticaloa auf Kokospalmen in verheerendem Maße Rhynchophorus signaticollis, der „Red Palm Weevil". Vermutlich sind auch in den Nachbarbezirken auf den vom Sturme umgebrochenen Bäumen solche Überfälle vorgekommen. Der Rhynchophorus vollendete seine Entwicklung in 2 anstatt 4—5 Monaten. Die jungen Cocospflanzungen konnten nur durch Vernichten der befallenen Stämme und sorgfältige Überwachung vor größerem Schaden bewahrt werden.

Als weniger gefährlich wird ein anderer Käfer angesehen, der unter dem Namen „Rhinoceros" (Oryctes rhinoceros) bekannt ist. Es ist aber ratsam, auch die von diesem Insekt bewohnten Kokosstämme zu vernichten, da die durch Oryctes verursachten Verletzungen das Eindringen des Rhynchophorus und der „but rot" genannten Bakterienkrankheit begünstigen. In manchen Gegenden Malesiens ist übrigens auch Oryctes sehr gefürchtet. Die Eingeborenen bestreuen die Gänge des Käfers mit feinem Sand, was die Larven und den Käfer vertreiben soll.

Der Teestrauch wird besonders von Xyleborus fornicatus, dem „Shot hole Borer", heimgesucht. Man vertreibt diesen Schädling durch Räuchern. Neuerdings werden Fackeln aus Grevillea-Blättern dazu verwandt.

Calotermes militaris ist ebenfalls als Schädling des Teestrauchs zu betrachten. Diese Termite dringt durch die Wurzel in gesunde Bäume ein und verursacht schließlich Umfallen derselben. Befallene Sträucher müssen verbrannt werden.

Herter (Montevideo).

Anonymus, Treatment of fungus diseases. (The Tropical Agriculturist, Ceylon. Vol. 30. 1909. p. 24—26.)

Bei der Bekämpfung von Pilzkrankheiten sind folgende Regeln zu beachten:

1) Zerstörung aller erkrankten Teile am besten durch Verbrennen,
2) Anwendung von Chemikalien,
3) Durchlüftung des Bodens,
4) Kultur widerstandsfähiger Rassen,
5) Verhinderung der Einfuhr neuer Pflanzen aus infizierten Gegenden,
6) Wahl guten Bodens.

Erwähnt werden folgende Krankheiten: „Canker", „Die Back", „Thread" des Kakao, „Anthracose" der Baumwolle, „Root disease" des Zuckerrohrs. Der Artikel ist anscheinend den „Agricultural News of the Imp. Dept. of Agriculture for the West Indies Bd. 6. 1907" entnommen.

Herter (Montevideo).

Wahl, Bruno, und **Zimmermann, Hugo,** Versuche über die Verwendbarkeit wässeriger Lösungen von Lysol und Kupferlysol (Kysol) zum Pflanzenschutz. (Zeitschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Österreich. Jahrg. 12. 1909. p. 149.)

Bei den mehrjährigen Versuchen hat sich herausgestellt, daß stark behaarte Blätter (wie Apfelblätter) leichter beschädigt werden, nackte jedoch viel weniger; auch sind junge Blätter empfindlicher als ältere. Das Resultat der angestellten Versuche spricht dafür, daß man unbedenklich 10-proz. Lösungen von medizinisch reinem Lysol, bezw. von Rohlysol für die Winterbehandlung der Obstgehölze, also zur Bekämpfung der Schildläuse und vielleicht auch der Überwinterungsstadien anderer Schädlinge verwenden kann. Über die eventuelle Verwendbarkeit schwächerer Konzentrationen (von 6 bis 10 Proz.) müssen erst weitere Versuche Aufschluß geben. Wässerige Lösungen von medizinisch reinem Lysol, bezw. Rohlysol und Kupferlysol sind für sich allein ungeeignet zur Bespritzung beblätterter Pflanzenteile. Versuche aber, die Zimmermann im Anschlusse an die vorliegenden Versuche über verschiedene Lysolfabrikate und Mischungen derselben mit anderen Insekticiden im Jahre 1908 durchgeführt hat und die weiter fortgesetzt werden sollen, ergaben, daß einzelne der angewandten Präparate äußerst günstige Resultate lieferten. In Gemischen mit anderen Insekticiden wirkt auch eine geringe, die Blätter nicht schädigende Beimischung von Lysol (unter 1 Proz.) sehr günstig, indem durch dieselbe (vielleicht infolge der besseren Benetzungsfähigkeit) die insekticide Wirkung bedeutend erhöht wird. So wirkten nach Mader Bespritzungen mit 2-proz. Lösungen von Tabakextrakt auf die Minierräupchen von Lyonetia clerkella L. gar nicht ein, während eine weniger konzentrierte Lösung des Tabakextraktes, nämlich 1½ kg Extrakt auf 100 l Wasser, der aber $^1/_8$ l Lysol zugesetzt war, beim Bespritzen dieselben Räupchen tötete. Eine von den Verff. vorgenommene Bespritzung der Blätter des Flieders, die von den minierenden Räupchen der Fliedermotte (Gracilaria syringella F.) befallen waren, mit einer Lösung, welche 1½ Proz. Tabakextrakt und ¼ Proz. Lysol enthielt, ergab die günstigsten Resultate. Stift (Wien).

Dandeno, J. B., On the toxic action of Bordeaux mixture and of certain solutions on spores of Fungi. (Report of Michigan Acad. of Scienc. Vol. 10. 1908. 58 pp.)

Bei den zahlreichen Experimenten mit den Pilzen Penicillium glaucum, Puccinia asparagi, Macrosporium nobile, Glomerella rufomaculans, Ustilago maydis wurden folgende toxische Substanzen benützt: KOH, NaOH, HCl, H_2SO_4, $CuSO_4$ und die Bordeauxbrühe. In Tafeln gibt der Verf. die Resultate der Versuche, wobei er die verschiedene Resistenz der diversen Pilze in Bezug auf die benutzten Pilze benützte. Matouschek (Wien).

Zschokke, Th., Versuche mit Karbolineum und Reflorit an Obstbäumen. (Landwirtschaftl. Jahrbuch d. Schweiz. 1909. p. 333.)

Der Verf. berichtet über einige von ihm an der Schweiz. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau ausgeführte Versuche.

Konzentriertes Karbolineum erwies sich zur Blutlausbekämpfung als ungenügend, die tiefer liegenden Tiere wurden nicht getötet; dagegen war die Vernichtung der Kommaschildläuse eine fast vollständige.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Verdünnte Lösungen von Lauril-Karbolineum bewährten sich weder gegen tierische Schädlinge noch gegen den Schorfpilz; die Sporen des letzteren keimten in ½-proz. Karbolineumlösung normal aus.

Die Behandlung chlorotischer Birnbäume mit Reflorit ergab keinen Heilerfolg; dieses Mittel versagte auch im Kampfe gegen die verschiedensten Obstbaumparasiten vollständig. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Störmer, K., Die Bekämpfung der Blutlaus an Obstbäumen. (Deutsch. Obstbauztg. 1909. Heft 7.)

Mit ganz unwesentlichen rein textlichen Abänderungen bringt der Aufsatz über die Blutlaus genau dasselbe wie der Artikel: „Die Bekämpfung der Blutlaus und ähnlicher Schädlinge an Obstbäumen" vom gleichen Verf. in No. 48/49 1908 der „Landwirtschaftlichen Wochenschrift für die Provinz Sachsen. Marshall (Halle a. S.)

Krüger, Beobachtungen über Schädigung von Obstgehölzen durch arsenhaltige Brühen. (Mitt. aus der K. Biol. Anstalt Heft 8. 1909. p. 79.)

Es wurden Bespritzungsversuche mit einer Arsenbleibrühe (330 g arsensaures Natron und 567 g essigsaures Blei auf 100 l Wasser) und Bestäubungsversuche mit einem Gemisch von 1 Vol. Schweinfurter Grün, 4 Vol. Schwefel („Sulfur citrinum pulv. subtil. Sieb 6" von Riedel) und 2 Vol. Ätzkalk (frisch gelöscht) angestellt; als Versuchspflanzen dienten Johannisbeer- und Stachelbeer-Sträucher und verschiedene Kern- und Steinobstbäume. Schon am ersten Tage nach der Behandlung zeigten die bespritzten Pflanzen Vergiftungserscheinungen. Es ergab sich, daß die Beschädigung nicht auf einer Giftwirkung des Arsens oder Bleis, sondern auf „der osmotischen Wirkung der konzentrierten Salzlösungen" beruht. Die bestäubten Pflanzen zeigten keine Vergiftungssymptome. Riehm (Groß-Lichterfelde).

v. Kirchner, Brand und Rost des Getreides und ihre Bekämpfung. (Ill. landwirtsch. Zeitung. Jahrg. 29. 1909. No. 30.)

Neben den bekannten Beizmitteln empfiehlt Verf. als Mittel zur Verhütung der Brandkrankheiten die Auswahl widerstandsfähiger Getreidesorten. Die sechsjährigen Versuche im botanischen Garten in Hohenheim mit Weizen- und Dinkelsorten ergaben nicht nur große Unterschiede in der Widerstandsfähigkeit, sondern mehrere Sorten erwiesen sich als ganz oder fast immun gegen Steinbrand. Während unter den Winterweizen Heines Teverson einen Brandbefall von 85,75 Proz. der Ähren, Mettes Squarehead einen solchen von 71,7 Proz. bei künstlicher Infektion zeigten, blieb Hohenheimer Winterweizen No. 77 während 4 Jahrgängen so gut wie steinbrandfrei. Unter dem Sommerweizen besitzt der galizische Kolbenweizen eine große Brandfestigkeit, ebenso blieben mehrere Hartweizen fast brandfrei. Unter den Dinkelsorten wurde blauer Winterkolbendinkel und blauer samtiger Sommergrannendinkel in 4 Jahrgängen niemals befallen, dagegen weißer Wintergrannendinkel zu 45 Proz.

Bei den Rostkrankheiten liegen die Verhältnisse je nach der Rostart verschieden.

Während für den Gelbrost große Sortenunterschiede vorhanden sind, wird das Auftreten des Schwarzrostes vorzugsweise von äußeren Faktoren beeinflußt, ebenso greift Braunrost anscheinend unabhängig von der Sorte bei eingetretener Herabsetzung der vegetativen Entwicklung um sich. Die Immunität gegen Gelbrost ist keine konstante Eigenschaft, sondern ändert sich mit dem Standort. So ließen von Eriksson als widerstandsfähig gegen Gelbrost befundene Sorten in Hohenheim diese Eigenschaft missen. Nach den vom Verf. angestellten Versuchen verhielten sich die angebauten Sorten in folgender Weise in Bezug auf den Grad des Rostbefalls: Unter den Winterweizen wurde am stärksten Michigan Bronce, zu 78 Proz. im 5jährigen Durchschnitt (bis 90 Proz. in einzelnen Jahren) befallen; ihm folgt Horsfords Winterperlweizen mit 76,7 Proz. im 3jährigen Durchschnitt. Dagegen zeigten sich als sehr rostfest: Extra Squarehead, Mundes Squarehead, Criewener 115, Buhlendorfer braunkörniger, Cimbals Prinz Carolath, Teverson und Nordstrand. Von den Sommerweizen wurde Heines Noé durchschnittlich mit 33,7 Proz. befallen, während Richelle blanche trative. d'Odessa sans barbe und galizischer Kolbenweizen so gut wie rostfrei blieben. Ähnliche Unterschiede zeigten sich auch bei Dinkel.

Schaffnit (Bromberg).

Heald, F. D., Seed treatment for the smuts of winter barley. (Nebraska Stat. Rpt. 1907. p. 45.)

Verf. gibt einige Resultate bei der Bekämpfung von Ustilago hordei und Ustilago nuda. Er wandte folgende Beizungen an: 1) Formalinbeize und zwar in der Stärke variierend von 1 pt. zu 10 gal. Wasser (0,5 Proz.) bis 1 pt. zu 25 gal. (0,2 Proz.). 2) Heißwasserbeize. Vorquellung in kaltem Wasser 4 Stunden, naß stehen lassen 4 Stunden, dann eintauchen für 5 Minuten in heißes Wasser von 43—49° C. (110—120° F.), dann 5 Minuten in heißes Wasser von 53—55° C. (126—130° F.). 3) Ätzsublimat 3 Teile auf 1000 Teile Wasser und mit halber Konzentration. 4) Kupfersulfat. 12stündige Einquellung in eine Lösung von 1 lb. auf 24 gal. Wasser (ca. 0,47 Proz.) für 12 Stunden, dann in Kalkwasser auf 5 Minuten, oder Einquellung in Wasser auf 6 Stunden, dann in eine Lösung von K., 1 lb. auf 18 gal. Wasser (0,55 Proz.) auf 6 Stunden, mit nachfolgender Kalkbehandlung. Am besten und sichersten wirkt nach Verf. Formalin (0,2 Proz.), Heißwasserbehandlung und Kupferbehandlung. Eichinger (Halle a. S.).

Appel, O., Anleitung zur Bekämpfung des Getreidebrandes. (Mitteilung. d. Deutsch. Landw.-Gesellsch. 1909. p. 256—258. m. 9 Abbild.)

In gedrängter Form werden die Brandarten der wichtigsten Getreidearten und ihre Bekämpfung besprochen. Der Inhalt ist für den Praktiker berechnet. Für die Wissenschaft bringt er nichts neues. Die beigegebenen nach Photographien hergestellten Abbildungen illustrieren die besprochenen Brandarten vorzüglich. K. Müller (Augustenberg).

Köck, G., und **Bretschneider, A.,** Vergleichende Versuche mit einigen Spritzmitteln gegen die Peronospora des Weinstockes. (Wiener Landwirtschaftl. Zeitung. Jahrg. 59. 1909. p. 213.)

Als Spritzmittel kamen in Anwendung: 1) Kupfervitriolkalkbrühe in 1-proz. Konzentration, 2) „Tenax" in 1-, 1,5- und 2-proz. Konzentration, 3) „Cucasa" in 2-proz. Konzentration (nach Vorschrift), 4) Formaldehyd in 0,1- und 0,15-proz. Konzentration und 5) Kupfer-Schwefel-Formaldehydbrühe von G. Jaquemin in Paris in 2- und 3-proz. Konzentration (nach

Vorschrift). „Tenax“ ist ein Gemisch von Kupfervitriol, Soda und Aluminiumsulfat und stellt ein weißliches Pulver dar. „Cucasa“ (Erzeuger C. Marquat, Beutel a. Rh.) kommt in jeder Packung in 2 Paketen mit einem weißen und blauen Pulver in den Handel. Das blaue Pulver ist ein Gemisch von Zucker mit Kupfervitriol, das weiße Pulver ein teilweise abgelöschter Ätzkalk, der durch Anziehung von Kohlensäure aus der Luft in Calciumkarbonat übergegangen ist. Das Verhältnis zwischen dem blauen (1200 g) und dem weißen Pulver (400 g) ist als ein unrationelles zu bezeichnen und verschlechtert sich bei längerem Aufbewahren durch die kontinuierliche Aufnahme von Kohlensäure noch mehr. Die Jaqueminsche Brühe enthält Kupfervitriol, Kaliumbisulfit und Formaldehyd.

Die an verschiedenen Orten durchgeführten Versuche lassen folgende Schlußfolgerungen zu: 1) Mit Hinsicht auf die fungizide Wirkung hat die Formaldehydlösung vollkommen versagt, auch wurden teilweise durch diese Lösung pflanzenschädigende Wirkungen hervorgerufen, so daß dieses Mittel jedenfalls aus der Liste der fungiziden Spritzmittel gegen die Peronospora zu streichen ist. 2) Bei den anderen der genannten Mitteln war in den angewandten Konzentrationen die fungizide Wirkung, soweit dies im Versuchsjahre konstatiert werden konnte, ziemlich gleich. Pflanzenschädigende Wirkungen zeigten sich in schwachem Grade bei intensiverem Spritzen mit „Cucasa“, bei Verwendung von 2-proz. „Tenax“ und in starkem Grade bei Verwendung der 2- und 3-proz. Jaqueminschen Brühe.

Die Versuche mit „Tenax“, „Cucasa“ und der Kupfervitriolkalkbrühe sollen weiter fortgesetzt werden, während von weiteren Versuchen mit der Jaqueminschen Brühe, die sich neben ihrer Wirkungslosigkeit und Schädlichkeit für die Pflanzen auch noch durch einen hohen Preis auszeichnet, Abstand genommen wird. Bezüglich der Bequemlichkeit der Herstellung der Lösung steht „Tenax“ an erster Stelle, da sich dieses Mittel schnell und vollständig löst. Umständlicher ist die Bereitung der Cucasabrühe. Die Haftfähigkeit aller Mittel war, mit Ausnahme der Formaldehydlösung, eine ganz zufriedenstellende, wie ferner auch sich alle Mittel gut zerstäuben ließen. Der Preis der „Cucasa“- und der Jaqueminschen Brühe ist ein sehr hoher. Es kostet eine Originalpackung „Cucasa“ für 100 l Spritzflüssigkeit ungefähr K 4, die Jaqueminsche Brühe per 100 l Spritzflüssigkeit K 3,50—5,50, Preise, die durch die Zusammensetzung dieser Mittel nicht gerechtfertigt erscheinen und jedenfalls nur im Falle einer besonderen Wirkungsweise (die für das Jaqueminsche Mittel aber nicht zutrifft) eine Empfehlung derselben zulassen würden. Stift (Wien).

L., B., Bekämpfung des Traubenwicklers. (Wiener Landwirtsch. Zeitung. Jahrg. 59. 1909. p. 312.)

Es gibt 2 Arten des Traubenwicklers, den einbindigen (Conchylis ambiguella) und den schädlicheren bekreuzten Traubenwickler (Eudemis botrana). Die Schmetterlinge des ersteren erscheinen zweimal, jene des anderen dreimal im Jahr und heißen im Frühjahr Heuwurm-, im Sommer Sauerwurmmotten. Da die Eier nach und nach abgelegt werden, ist ihre entsprechende direkte Vertilgung nicht möglich. Immerhin soll man durch Bespritzen der Gescheine und Trauben mit 10-proz. frisch gelöschtem Kalk Erfolge gehabt haben. Die Schädlinge sind am besten als Motten zu bekämpfen, und zwar bevor sie die Eier abgelegt haben, ein Zeitpunkt, der je nach den klimatischen Verhältnissen der Gegend und der jeweiligen

Witterung verschieden ist. Ferner ist auch die Tageszeit nicht außer acht zu lassen, denn der bekreuzte Traubenwickler fliegt in der Dämmerung, etwa von 4—5 Uhr nachmittags an, ebenso morgens bis 9 Uhr; somit eignet sich bei ihm der Lampenfang nicht, weil die Motten in der Nacht ruhen. Die andere Art schwärmt dagegen bei günstigem Wetter die ganze Nacht und kann durch Fächerblätter (25 × 30 cm große Stücke aus durchlochtem Blech mit Handhabe), die mit andauernd klebrigem Leim bestrichen sind, gefangen werden, eine Methode, die aber nur dort zu empfehlen ist, wenn der Schädling nur auf bestimmte Flächen beschränkt ist und daher noch keine große Verbreitung gefunden hat. Vielfach wurde der Fang mit Lampen versucht, sogar bei dem bekreuzten Traubenwickler und zwar in der Weise, daß die Weinstöcke geschüttelt wurden. Die aufgescheuchten Motten bleiben dann auf dem mit Klebstoff bestrichenen Papier der Lampe hängen. Der Fang mittels der Lampen kommt, da die Motten der ersten Generation wenig fliegen, zumeist nur für die zweite Generation in Frage. Das Fangen der Heuwurmraupen (die älteste Art des Unschädlichmachens) ist bei größeren Komplexen kostspielig. Das Töten der Raupen selbst durch Kontaktflüssigkeiten (gewöhnliche Öle, Benzin, Terpentin, Petroleum und Seifenlösungen, vermischt oft mit Insektenpulver oder Tabakextrakt) wird als unsicher bezeichnet. Über die Bekämpfung durch Vergiften der Blüten mit Arsenverbindungen oder Chlorbaryum lauten die Resultate noch unbestimmt. Versuche, die Raupen durch Baum- und Rebgürtel an bestimmten Orten zum Verpuppen zu versammeln, hat zu wenig Wirkung gehabt. Die zweite Generation (jene des Sauerwurmes) ist schwerer zu bekämpfen, weil das Laub den Fächerfang erschwert, weshalb bei Motten der Fang mit den Laternen in Anwendung zu bringen ist. Gegen die Raupen kennt man noch kein anderes Mittel, als das Auslesen der von ihnen befallenen Beeren, was aber nur durch zuverlässige Leute durchzuführen ist. Die gesammelten Beeren werden verbrannt. Vollreife Beeren sind stets frei von den Raupen, da ein förmlicher Massenauszug stattfindet, dessen Ursache noch nicht sicher erforscht ist. Was den Kampf im Winter anbetrifft, so lassen viele Winzer die Borke nicht älter als 3—4 Jahre werden, um sie dann abzunehmen und zu verbrennen. In Frankreich übergießt man die Stöcke mit heißem Wasser oder läßt aus fahrbaren Apparaten Dampf auf sie strömen. Bestreichen der Stöcke mit einer Emulsion von Steinkohlenteer oder Einlehmen mit einem Brei von Lehm, Kalk und Leim lassen noch kein bestimmtes Urteil zu. Rissige Rebpfähle behandelt man in Frankreich in einem Blechkasten etwa 30 Minuten lang mit Schwefeldampf oder bestreicht sie mit einer Emulsion aus 10 kg Steinkohlenteer, 2 kg Ölsäure aus Stearinfabriken, 0,5 kg kaustischer Soda in 90 l Wasser. Am besten wäre freilich die Verwendung eiserner Rebpfähle, wo Drahterziehung nicht wünschenswert erscheint. Stift (Wien).

Feytaud, J., La destruction de l'Eudémis. Nouvelles recherches de destruction par les liquides insecticides. (Revue de viticulture. T. 31. 1909. p. 92.)

Im Jahre 1908 richtete der bekreuzte Traubenwickler in der Gironde und in benachbarten Departementen wieder einen sehr bedeutenden Schaden an. Verf. führte die früheren Bekämpfungsversuche, deren erste Ergebnisse er gemeinsam mit Capus veröffentlichte, weiter. Die vorliegenden Versuche erstrecken sich ausschließlich auf die Wirksamkeit des titrierten Tabaksaftes und des Chlorbaryums; beide kamen mit und ohne Kupfermittel zur

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Anwendung; Arsenpräparate wurden ihrer Gefährlichkeit wegen diesmal nicht mehr herbeigezogen.

Die Wirkung des Chlorbaryums war eine gute. Bei der Frühjahrsbespritzung darf die Konzentration 1,5, bei der Sommerbehandlung 2 Proz. nicht überschreiten; wird während der Blüte gespritzt, so empfiehlt es sich, eine Spritzflüssigkeit von nur 1 Proz. Chlorbaryum zu wählen. Um eine größere Haftfestigkeit zu erzielen, fügt man einen Zusatz von Melasse bei; dagegen bewährte sich die gleichzeitige Verwendung mit Bordeauxbrühe nicht. Weine von Trauben, die erst im Juli mit Chlorbaryum behandelt wurden, enthielten keine Spur dieses Giftes, so daß bei einer frühzeitigen Anwendung jede Gefahr für den Konsumenten als ausgeschlossen zu betrachten ist.

Der Tabaksaft wirkt bei den Raupen des Traubenwicklers nicht nur als Magengift wie das Chlorbaryum, sondern er tötet auch schon durch den bloßen Kontakt. Zudem hält er die eierlegenden Weibchen von den behandelten Reben fern. Im Frühjahr soll die Konzentration der Spritzflüssigkeit 1,5, im Juli 1,75 Proz. nicht überschreiten; während der Blütezeit sind nur 1,3 Proz. zu nehmen. Es soll nur titrierter Tabaksaft Verwendung finden, welcher am besten einer 2-proz. Bordeaux- oder Burgunderbrühe direkt zugesetzt und mit der Rebenspritze auf die Gescheine zerstäubt wird.

Um für die erste Bespritzung den günstigsten Zeitpunkt zu treffen, nämlich den Moment, wo die Schmetterlinge ausschlüpfen, sollen in jedem Weinbaubezirk Beobachtungsstationen eingerichtet werden, wozu ein Anfang bereits gemacht wurde. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Sicard, H., Un nouveau parasite de la Pyrale de la vigne. (Compt. Rend. Hebdom. des Sciensec, Paris. T. 147. 1908. p. 941 bis 943.)

Während man früher glaubte, es leben die Chalcididen direkt in den Raupen des dem Weinstocke gefährlichen Pyraliden (Zünslers) Oenophtira pilleriana Dup., weist der Verf. an Material von der Umgebung von Montpellier nach, daß in der Raupe des genannten Zünslers die wurmförmige, 3 mm große Larve und Puppe, der Dipterenart Parerynnia (Erynnia) vibrissata Rond. lebt. In diese setzen die zwei Chalcididen Pteromalus sp. und Chalcis minuta ihre Eier. Die Diptere vernichtet 60 Proz. der Raupen des Zünslers.

Matouschek (Wien).

Lüstner, G., und **Molz, E.,** Schutz der Weinrebe gegen Frühjahrsfröste. Leichtverständliche Darstellung zur Behandlung frostbeschädigter Reben. 121 pp. m. 27 Textabbild. Stuttgart (E. Ulmer) 1909. ℳ 2,50.

Der Beschreibung der Frostwehrmethoden sind einleitend vorausgeschickt die Theorien über Frostwirkung, eine Darstellung der Wirkung der Frühjahrsfröste auf die Reben und die meteorologische Schilderung der Kälterückfälle. Im Anschluß daran wird die Vorausbestimmung der Nachtfröste durch die sog. Frostwehrthermometer beschrieben. Unter den Schutzmaßregeln hat das Räuchern der Weinberge bei weitem die größte Bedeutung, dementsprechend sind die Räucherorganisationen und die Ausführung des Räucherns ausführlich berücksichrigt. Eine geringere Wichtigkeit kommt den anderen Verfahren zu, wie Schutzschirme, Bestäubungsmittel oder Unterwassersetzen der Reben. Auch durch verschiedene Methoden des Schnittes und der Erziehung der Reben hat man die Wirkung der Frühjahrsfröste abzuschwächen gesucht. Im letzten Kapitel „Die Behandlung der durch Frühjahrsfröste beschädigten Reben“ sind hauptsächlich eigene, neue Versuche der Verff. niedergelegt. Morstatt (Geisenheim).

Inhalt.

Referate.

Altmann, Nonneninvasion und Ausbruch der Wipfelkrankheit, p. 373.
Anonymus, Una opinion sobre la mancha negra del café, p. 360.
—, Fungus inside a bamboo, p. 353.
—, A Coconut Palm root disease, p. 351.
—, Coconut stem bleeding disease, p. 352.
Apelt, Über stickstoffassimilierende Mikroorganismen, p. 321.
Appel, O. und **Kreitz,** Die Blattrollkrankheit der Kartoffel, p. 366.
Appel, O. und **Riehm,** Untersuchungen über den Flugbrand des Getreides, p. 353.
Appel, O. und **Wollenweber,** Studien über Kartoffel-Fusarien, p. 367.
Arthur, J. Ch., Die neue Klassifikation der Uredineen und ihre Kritiker, p. 348.
Atkinson, G. F., Observations on Polyporus lucidus Leys. and some of its allies from Europe and North America, p. 350.
Bainier, G., Mycothèque de l'Ecole de Pharmacie. XXIV, XXV, XXVI, XXVII, p. 339.
—, Mycothèque de l'Ecole de Pharmacie. XXVIII et XXIX, p. 340.
Barber, M. A., The rate of multiplication of Bacillus coli at different temperatures, p. 281.
Baur, Über Fettspaltung mit Pankreas, p. 284.
Beardslee, H. C., Three rare Myxomycetes, p. 343.
Beal, F. E. L., Birds of California in relation to the fruit industry. Part. 1, p. 373.
Bechmann, M., Utilisation agricole des eaux d'égouts, p. 281.
Berger, E. W., Whitefly studies in 1908, p. 371.
Böck, Friedrich, Über Selbstentzündung, p. 333.
Bouska, F. W., The use of starters in buttermaking, p. 310.
Brasch, Walter, Über den bakteriellen Abbau primärer Eiweißspaltprodukte, p. 279.
Brocq-Rousseu et **Gain, Edmond,** Sur la présence de l'amylase dans les vieilles graines, p. 285.
Buard, G., Recherche de l'indol dans les cultures microbiennes, p. 280.
Bubak, F., Über die richtige Benennung von Tilletia belgradensis Magnus, p. 349.
Buchner und **Meisenheimer,** Über die Rolle der Milchsäure bei der alkoholischen Gärung des Zuckers, p. 292.
Buchner, Eduard, und **Haehn, Hugo,** Über das Spiel der Enzyme im Hefepreßsaft, p. 286.
Buchner, Eduard, und **Wüstenfeld, Hermann,** Über Zitronensäuregärung durch Citromyceten, p. 302.
Buchwald und **Neumann,** Über das Bleichen der Mehle, p. 332.
Burri, R. und **Thöni, J.,** Über Eigenschaften und Bedeutung der bei der Emmentalerkäsefabrikation gelegentlich auftretenden schleimbildenden Milchsäurebakterien, p. 308.
Busse, W. und **Ulrich,** Der Wurzelbrand der Rüben, p. 367.
—, Die Herz- und Trockenfäule der Rüben, p. 368.
Butkewitsch, Die Kultur des Schimmelpilzes Aspergillus niger, als Mittel zur Bodenuntersuchung, p. 314.

Chapelle, J. et **Ruby, J.,** La teigne ou chenille mineuse de l'olivier, p. 360.
Clifart, Dobell, On the so-called „sexual“ method of spore formation in the disporic Bacteria, p. 278.
C(ieslar), Adolf, Der Wald als Stickstoffsammler, p. 327.
Cockayne, A. H., Notes on the spread of Phytophthora infestans with special reference to hybernating mycelium, p. 365.
Cluß, Adolf, Fermentative oder chemische Säuerung in der Brennerei, p. 302.

Dangeard, P. A., Note sur une Zoocécidie rencontrée chez un Ascomycète: l'Ascobolus furfuraceus, p. 375.
Danckwerts, Die landwirtschaftliche Verwertung städtischer Abwässer, p. 282.
Delacroix, G. et **Maublanc,** Maladies des plantes cultivées. I. Maladies non parasitaires. — II. Maladies parasitaires, p. 341.
Dombrowski, W., Sur l'Endomyces fibuliger, p. 299.
Ducháček, Franz, Einwirkung verschiedener Antiseptica auf die Enzyme des Hefepreßsaftes, p. 295.
Dufour, L., Note sur la classification des Basidiomycètes, p. 349.
Du Pasquier, Paul, A., Beiträge zur Kenntnis des Tees, p. 337.

Dzierzbicki, Adam, Einige Beobachtungen über den Einfluß der Humusstoffe auf die Entwicklung der Hefe und auf Alkoholgärung, p. 296.

Ehrenberg, Paul, Theoretische Betrachtungen über die Beeinflussung einiger der sog. physikalischen Bodeneigenschaften, p. 316.

Ehrlich, Felix, Über die Entstehung der Bernsteinsäure bei der alkoholischen Gärung, p. 295.

Ellis, D., A preliminary notice of five new species of Iron-Bakteria, p. 311.

Ewert, Erstes Auftreten der Septoria Azaleae in Schlesien, p. 356.

v. Faber, Einiges über die Hemileia-Krankheit der Kaffeepflanze und die Widerstandsfähigkeit verschiedener Kaffeearten gegen dieselbe, p. 360.

Faes, H., Progrès du phylloxéra. Le phylloxéra sur feuilles, p. 364.

Familler, Ig., Über Störungen im Pflanzenleben, p. 342.

Ferraris, Teodoro, Osservazioni sulla morfologia dell' Oidio delle quercie, p. 378.

Feytaud, J., Les Chrysomèles de l'osier, p. 359.

Fickendey, Zur Kakaofermentation, p.313.

Filter, Akklimatisationsversuche mit Grobseide, p. 370.

Fischer, Ed., Der Eichen-Meltau, p. 358.

Fischer, Hugo, Der gegenwärtige Stand der Bodenbakteriologie, p. 315.

—, Neues aus der Bakteriologie, p. 273.

Fluri, Max, Der Einfluß von Aluminiumsalzen auf das Protoplasma, p. 276.

Gallagher, W. J., A root disease of Para (Hevea braziliensis) rubber trees, p. 363.

—, Plant life and disease, p. 339.

Gard, M., Note sur un Oïdium attaquant les feuilles de Chêne, p. 357.

Gordan, P., und **Bahr, C.,** Bakterienkunde für landwirtschaftliche und Molkereilehranstalten, wie für die landwirtschaftliche Praxis, p. 273.

Grosser, Der Kartoffelkrebs, p. 367.

Grazia, S. de, Influenza dell'umidita del suolo su l'azione concimante della calciocianamide, p. 317.

Guéguen, F., Observations diverses sur le Lepiota lutea (Bolt.) Quél. et description du Lepiota Boudieri n. sp., p. 350.

—, Etude sur l'album Pelletier de Guernisac, p. 341.

Guilliermond, A., Contribution à l'étude cytologique des Endomyces: Saccharomycopsis capsularis et Endomyces fibuliger, p. 298.

—, Sur la reproduction sexuelle de 'lEndomyces Magnusii Ludwig, p. 301.

Guiraud et **Mandoul, H.,** A propos de la signification du Bacillus coli dans les eaux potables, p. 280.

Gutfleisch, Ernst, Die Bakterien im Kreislaufe des Stoffes in der Natur und im Haushalte des Menschen.p. 273.

Harding, H. A., and **Prucha, M. J.,** The bacterial flora of cheddar cheese, p. 307.

Hauch, L. A., Die Wirkung des Spätfrostes in jungen Buchenwaldungen, p. 377.

Hayduck, F., Über einen Hefengiftstoff in Hefe, p. 292.

—, Zur Mechanik und Dynamik der Hefe, p. 297.

Hedin, Über Hemmung der Labwirkung, p. 312.

Heinemann, Lactic acid as an agent to reduce intestinal putrefaction, p. 311.

Hennings, P., Exogone Kaiseriana P. Henn. n. g. et n. sp., p. 346.

Heyer, Fermentative oder chemische Säuerung in der Brennerei, p. 303.

Heymons, R., Ein neuer Troctes als Schädling in Buchweizengrütze, p. 337.

Hildebrand, Über Lab und seine Prüfung auf Stärke, p. 313.

Höhnel, Franz von, Mykologisches, p. 338.

Isräel, Wilhelm, Über den Fraß von Tortrix viridana in Ostthüringen in den Jahren 1904—1908, p. 359.

Jaccard, Paul, Wirkung des Frostes auf den Blattabfall, p. 376.

Jacobasch, Mehrere Monstrositäten und Verpa Brebissoni von einem zweiten Standorte, p. 374.

—, Monstrositäten und ein in der Kultur äußerst üppig gewordener Asparagus Sprengeri, p. 374.

Jahn, E., Myxomycetenstudien. 7. Ceratiomyxa, p. 343.

Jourde, Antoine, Etude de quelques moisissures thermophiles (Aspergillus Micheli, Sterigmotocystis Cramer, Poecilomyces Bainier), p. 334.

Karl, W. V., Some tomato fruits rots during 1907, p. 369.

Kaserer, Hermann, Ersatz des Chilisalpeters in der Zukunft. α. Ersatz durch Stallmist und verschiedene wirtschaftliche Maßnahmen. β. Vom biologischen Standpunkte, p. 329.

Kern, F. D., The existence of Roestelia penicillata and its tetial phase in North America, p. 348.

—, The rust of timothy, p. 353.

Kersten, H. E., Über die Haltbarkeit der Diphtherie- und Paratyphus B-Bacillen in der Milch, p. 304.

Kirchner, O., Das Auftreten des Eichenmehltaues in Württemberg, p. 357.

Klebahn, Düngungsversuche mit Phosphaten, p. 319.

Klebahn, H., Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. VI. VII., p. 350.

Klöcker, Alb., Deux nouveaux genres de la famille des Saccharomycètes, p. 293.

Klöcker, Alb., Endomyces javanensis nov. sp., p. 300.

Klugkist, C. E., Zur Kenntnis der Schmarotzerpilze Nordwestdeutschlands, p. 339.

Krüger, W., und **Wimmer, G.,** Über die Herz- und Trockenfäule, p. 368.

Kühl, Das Vorkommen einer Oidiumart auf eingemachten Früchten, p. 335.

—, Zersetzung organischer Stoffe durch Bakterien, p. 333.

Laibach, F., Einige bemerkenswerte Erdbeerpilze, p. 356.

Lamson, G. H., Infektion and preservation of eggs, p. 336.

Laubert, R., Über eine Exobasidiumkrankheit der Azaleen und den Mehltau des Apfelbaumes, p. 356.

Lauterborn, Bericht über die Ergebnisse der 5. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Basel-Mainz (vom 4.—16. Juli 1907), p. 280.

Lemmermann und **Fischer,** Untersuchungen über die Zersetzung der Kohlenstoffverbindungen verschiedener Gründüngungspflanzen, p. 317.

Lemmermann und **Tazenko,** Untersuchungen über die Umsetzung des Stickstoffs verschiedener Gründüngungspflanzen im Boden, p. 317.

Lendner, Alfred, Les Mucorinées de la Suisse, p. 344.

Lindner, Paul, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben mit einer Einführung in die technische Biologie, Hefenreinkultur und Infektionslehre, für Studierende und Praktiker bearbeitet, p. 287.

Löb, Walther, Über die Aufnahme des Stickstoffs durch Alkohol unter dem Einfluß der stillen Entladung, p. 298.

—, Über die Bildung von Buttersäure aus Alkohol unter dem Einfluß der stillen Entladung, p. 298.

Ludwig, F., Die Milbenfauna der Käse. Ein Beitrag zum zoologischen Unterricht, p. 310.

Lüstner, Insekten- und Pilzschäden in unseren Eichenwäldern, p. 359.

Lutz, M. L., Sur l'accumulation des nitrates dans les plantes parasites et saprophytes et sur l'insuffisance de la diphénylamine sulfurique comme réactif microchimique de ces substances. p. 370.

Mangin, L., Formation normale et formation désordonnée des conidies chez les Aspergillacées, p. 345.

Marsson, Bericht über die Ergebnisse der 5. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Mainz bis Koblenz (vom 9.—16. Juli 1907), p. 280.

Masobey, E. George, Land utilisation of sewage, p. 282.

Maximow, N., Zur Frage über das Erfrieren der Pflanzen, p. 376.

Maxwell-Lefroy, H., The Castor semi-looper (Ophiusa melicerte Dr.), p. 371.

Michaelis, L. und **Rona, P.,** Bemerkung zu der Mitteilung von Resenscheck in Bd. 15 p. 1 dieser Zeitschrift, p. 284.

Mießner, Über die Giftigkeit der Rizinussamen, p. 335.

Molliard, M., Une nouvelle Plasmodiophorée, parasite du Triglochin palustre, p. 354.

Molz, Über ein plötzliches Absterben zweier Stöcke von Riparia Rupestris in dem Reben-Veredlungsgarten der kgl. Lehr-anstalt in Geisenheim, p. 364.

Müller, Karl, Über das Auftreten von zwei epidemischen Mehltaukrankheiten in Baden, p. 346.

Nalepa, A., Eriophyiden. (Botanische und zoologische Ergebnisse einer wissenschaftlichen Forschungsreise nach den Samoa-Inseln, dem Neuguinea-Archipel und den Salomonsinseln. Teil IV.), p. 374.

Němec, B., Über die Natur des Bakterienprotoplasten, p. 275.

Neuberg, Carl, Verhalten von racemischer Glutaminsäure bei der Fäulnis, p. 285.

Neuberg, Carl, und **Cappezzuoli, Cesare,** Biochemische Umwandlung von Asparagin und Asparaginsäure in Propionsäure und Bernsteinsäure, p. 285.

Neuberg, Carl, und **Karczag, László,** Verhalten von d, l-à-Aminoisovaleriansäure (d, l Valin) bei der Fäulnis, p. 285.

Neumann und **Knischewsky,** Studien über die Teiggärung. II. Die Hefevermehrung im Teig, p. 314.

Olive, E. W., Sexual cell fusions and vegetation nucle divisions in the rusts, p. 346.

Oppenheimer, C., Methodologie der Enzymforschungen, p. 283.

Paris, G., e **Marsiglia, T.,** La riduzione die nitrati nella fermentazione alcoolica, p. 320.

Pennington, L. H., Mycorhiza-producing Basidiomycetes, p. 349.

Pohl-Rohrbeck, H., Wie ist der Ausfall von Stallmist bei Mißernten zu ersetzen? p. 318.

Preißecker, Karl, Ein kleiner Beitrag zur Kenntnis des Tabakbaues im Imoskauer Tabakbaugebiete. 4. Fortsetzung, p. 361.

Raciborski, M., Opisykilku rdzy Jawy. [Über einige javanische Uredineae], p. 347.

Remy, Th., und **Schneider, G.,** Beobachtungen über das Auftreten der Blattrollkrankheit, p. 366.

Ridley, H. N., A disease of cloves, p. 352.

—, Some insect pests, p. 370.

R[idley], H. N., A camphor pest, p. 357.

—, Some diseases of rubber plants, p. 363.

Rogers, L. A., Fishy flavor in butter, p. 307.

Rogers, L. A. and **Gray, C. E.,** The influence

of acidity of cream on the flavor of butter, p. 307.

Rorer, J. B., A bacterial disease of the peach, p. 355.

Rubner, Max, Grundlagen einer Theorie des Wachstums der Zelle nach Ernährungsversuchen an Hefe, p. 275.

Ruhland, W., Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut, p. 277.

Ruhland, W., u. **von Faber, C. F.,** Zur Biologie der Plasmopara viticola, p. 363.

Saccardo, P. A., Notae mycologicae. Series X, p. 340.

Sartory, A., Caracteres biologiques et pouvoir pathogène du Sterigmatocystis insueta Bainier, p. 345.

Schander, R., Kartoffelkrankheiten, p. 364.

Scherpe, Über den Einfluß des Schwefelkohlenstoffs auf die Stickstoffumsetzungsvorgänge im Boden, p. 321.

Schmidt, Ernst Willy, Über den Parasitismus der Pilze, p. 338.

Schreiber, Karl, Raupenkalender. Nach Futterpflanzen geordnet für das mitteleuropäische Faunengebiet, p. 371.

Schroeder, H., Über die Einwirkung von Äthyläther auf die Zuwachsbewegung, p. 277.

Scott, W. M., and **Rorer, James B.,** Apple blotch, a serious disease of southern orchards, p. 354.

Scurti, F., e **Parrozzani, A.,** Sul potere lipolitico dei cemi di croton tiglio, p. 284.

Seaver, F. J., North Dakota slime-moulds, p. 343.

—, Notes of North American Hypocreales I, p. 345.

Shear, C. L., The present treatment of monotypic genera of fungi, p. 339.

Sheldon, J. L., Notes on Uromyces, p. 346.

Sigmund, Wilhelm, Über ein salicinspaltendes und ein arbutinspaltendes Enzym, p. 285.

Simon, J., Neuere Ergebnisse bodenbakteriologischer Forschungen, ihr Wert für die landwirtschaftliche Praxis, p. 315.

Smith, Ewing, Report on diseased rubber trees forwarded grom Puak, p. 363.

Sorauer, P., Ein interessanter Fall von Ammoniakvergiftung, p. 375.

Spegazzini, C., Una nueva amenaza para los durazneros, p. 355.

Squires, J. H., Experiments in the growth of clover on farms where it once grew but now fails, p. 329.

Stevens, F. L., und **Hall, J. G.,** Eine neue Feigen - Anthraknose (Colletotrichose), p. 355.

Stewart, F. G., and **Hodgkiß, H. E.,** The Sporotrichum bud rot of carnations and the silver top of june grass, p. 346.

Stockdale, F. A., Fungus diseases of cacao and sanitation of cacao orchards, p. 3

Stockdale, F. A., Root disease of sugarcane, p. 352.

Stoklasa und **Ernest,** Beiträge zur Lösung der Frage der chemischen Natur des Wurzelsekretes, p. 331.

Stranák, Fr., Zur Assimilation des Luftstickstoffes durch im Boden freilebende Mikroorganismen, p. 320.

Sturli, Adriano, Über ein in Schimmelpilzen (Penicillium glaucum) vorkommendes Gift. Teil I, p. 334.

Theißen, F., Hypoxylon annulatum und sein Formenkreis, p. 349.

Torrend, C., Catalogue raisonné des Myxomycètes du Portugal, p. 342.

—, Flore générale des Myxomycètes, p. 343.

Tranzschel, W., Kulturversuche mit Uredineen im Jahre 1908. Vorläufige Mitteilung, p. 347.

Trotter, A., La recente malattia delle Querce, p. 357.

Trotter, A., Un caso di „tuberizzazione parassitaria" in piante di Amarantus silvestris Desf. (Nota preliminare), p. 375

Verworn, M., Allgemeine Physiologie. Ein Grundriß der Lehre vom Leben, p. 274

Vosseler, J., Eine Bohrraupe an Zwiebelgewächsen, p. 352.

Walker, L. B., A new form of Sphaeropsis on apples, p. 354.

Werth, Untersuchungen über die Infektion von Melandryum album durch Ustilago antherarum, p. 364.

Winkler, W., Die Verwendung von Reinkulturen in der Molkereipraxis, p. 303.

Wolf, F. A., A root rot of grapes due to Pestalozzia uvicola, p. 364.

Wünn, Hermann, Beobachtungen über eine in Mitteleuropa eingeschleppte Höhlenheuschrecke, p. 372.

Zemplén, Géza u. **Roth, Julius,** Beiträge zur Stickstoffaufnahme des Waldes, p. 327.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Abderhalden, Emil, Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden, p. 377.

Abel, R. und **Ficker, M.,** Einfache Hilfsmittel zur Ausführung bakteriologischer Untersuchungen, p. 380.

Artari, A., Der Einfluß der Konzentration der Nährlösungen auf das Wachstum einiger Algen und Pilze. III, p. 380.

Densch, Über die Genauigkeit bei der Bestimmung verschiedener Stickstoffformen in Bodenauszügen, p. 381.

Magnus, Die Erkennung von Mehlverfälschungen durch die serumdiagnostische Methode, p. 381.

Müller, Gustav, Mikroskopisches und physiologisches Praktikum der Botanik für Lehrer. Teil I. Die Zelle und der Vegetationskörper der Phanerogamen, p. 379.

Pleißner, Über die Messung und Regist-

rierung des elektrischen Leitvermögens von Wässern mit Hilfe von Gleichstrom, p. 382.
Tigerstedt, R., Handbuch der physiologischen Methodik, p. 380.
Welleba, Fr., Anleitung zur Mikroskopie und Mikrophotographie für Anfänger, p. 379.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Anonymus, Treatment of fungus diseases, p. 389.
Appel, O., Anleitung zur Bekämpfung des Getreidebrandes, p. 392.
B., L., Note sur quelques ennemis du Cocotier et du Théier à Ceylon, p. 388.
Boehnke, Karl Ernst, Über die Einwirkung einiger sogenannter Präservesalze auf Hackfleisch, p. 386.
Bokorny, Th., Chemische Konservierungsmittel, p. 383.
Dandeno, J. B., On the toxic action of Bordeaux mixture and of certain solutions on spores of Fungi, p. 390.
Eberts, Die Reinigung der Gewässer und der Fischteiche, p. 382.
Feytaud, J., La destruction de l'Eudémis. Nouvelles recherches de destruction par les liquides insecticides, p. 394.
Ficker, M., Über die Bedeutung indifferenter Stoffe bei der Salizylkonservierung p. 387.
Heald, F. D., Seed treatment for the smuts of winter barley, p. 392.
Hiltner, Die Beeinflussung des Wachstums der Pflanzen durch Bespritzung oder Bestäubung, p. 388.
v. Kirchner, Brand und Rost des Getreides und ihre Bekämpfung, p. 391.
Köck, G. und **Bretschneider, A.,** Vergleichende Versuche mit einigen Spritzmitteln gegen die Peronospora des Weinstockes, p. 392.
Krüger, Beobachtungen über Schädigung von Obstgehölzen durch arsenhaltige Brühen, p. 391.
L., B., Bekämpfung des Traubenwicklers, p. 393.
Lüstner, G. und **Molz, E.,** Schutz der Weinrebe gegen Frühjahrsfröste. Leichtverständliche Darstellung . . . zur Behandlung frostbeschädigter Reben, p. 395.
Ozonierung des Cuxhavener Fischmarktes, p. 388.
Peglion, V., Su la lotta contro alcune avversitax delle piante erbacee, p. 382.
Renezeder, Heinrich, Einiges aus dem Kreislaufe der Materie: Reinigung und Verwertung städtischer Abwässer, p. 383.
Sicard, H., Un nouveau parasite de la Pyrale de la vigne, p. 395.
Störmer, K., Die Bekämpfung der Blutlaus an Obstbäumen, p. 391.
Wahl, Bruno und **Zimmermann, Hugo,** Versuche über die Verwendbarkeit wässeriger Lösungen von Lysol und Kupferlysol (Kysol) zum Pflanzenschutz, p. 390.
Zschokke, Th., Versuche mit Karbolineum und Reflorit an Obstbäumen. p. 390.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klichees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Abgeschlossen am 16. November 1909.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 25. No. 14|18.

Nachdruck verboten.

Pseudomonas Cowardi, eine pigmentbildende Bakterie.

Ein Beitrag zur Kenntnis der abnormen Bakterienflora des Käses.

Von **Harald Huss**, Stockholm.

Während meiner Assistentenzeit an der bakteriologischen Abteilung der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel[1]) erhielt ich von Herrn T. A. Coward, milchwirtschaftlichem Instruktor in Yorkshire, England, eine Kultur einer von ihm im genannten Laboratorium isolierten Bakterie, um dieselbe in morphologischer und biologischer Hinsicht zu untersuchen. Die Bakterie wurde bei der Untersuchung eines sogenannten „Cleveland-Käses“, einer harten Käsesorte, die im Norden von Yorkshire fabriziert wird, gefunden. Der untersuchte Käse zeigte eine in physikalischer Beziehung abnorme Beschaffenheit, die sich in dem Vorhandensein von rotgelben, etwa rostfarbigen Flecken im Innern der Masse äußerte. Nicht nur in der Mitte des Untersuchungsobjektes konnten diese Flecken beobachtet werden, sondern auch die ganz unter der Rinde gelegene Partie des Käses zeigte den gleichen Fehler. Diese fehlerhafte Färbung ist, wie Herr Coward mir später schriftlich mitteilte, „common in certain dairies at certain times of the year“. Bezüglich der Details dieser anormalen Erscheinung und der eventuellen Beteiligung der hier zu beschreibenden Bakterie am Zustandekommen derselben werde ich mich nicht äußern. Hierüber wird Herr Coward selbst später berichten. In den folgenden Zeilen will ich nur eine ganz kurze Charakteristik der Bakterie geben. Dieselbe ist, wie die Untersuchung ergab, ein neuer Vertreter der Gattung Pseudomonas. Ob diese Bakterie wirklich allein, ohne Mitwirkung anderer Mikroben die roten Flecken im Käse hervorruft, ist, wenn auch manches dafür spricht, noch nicht ganz sicher erwiesen worden. Tatsache bleibt nur, daß die Pseudomonas Cowardi, wie ich den Mikroorganismus nenne, aus den erwähnten rostroten Flecken isoliert wurde und daß dieselbe wahrscheinlich in einem ursächlichen Verhältnis zu diesen Flecken steht. Eine Beschreibung der Bakterie dürfte daher, da eine solche jedenfalls unsere Kenntnisse über die farbstoffproduzierenden Käsemikroorganismen etwas erweitert, den milchwirtschaftlichen Mykologen von einem gewissen Wert und Interesse sein.

In einer früheren Arbeit[2]) ist von mir schon über einen in der Provinz Sachsen bei einem Hartkäse beobachteten Fehler berichtet worden, als dessen Urheber ein Micrococcus erkannt wurde. Die fehlerhafte Beschaffenheit dieses Käses bestand darin, daß die Rindenpartie desselben eine rötlichbraune oder gelbbraune, dicht unter der Oberfläche des Objektes fast mahagonibraune Färbung zeigte. Der Micrococcus, dem ich zufolge seiner Eigenschaft, einen intensiv chromgelben Farbstoff zu bilden, den Namen Micrococcus chromoflavus gab, zeigt also bezüglich seiner Lokalisation in der Käsemasse einen auffallenden Unterschied von Pseudomonas Cowardi. Die erstgenannte Bakterie kommt nur in der Nähe der Oberfläche des Käses vor, während Pseudomonas Cowardi auch im Innern der Masse gut gedeiht. Micrococcus chromoflavus ist ein obligater Aërobiont; Pseudomonas Cowardi entwickelt sich dagegen ebenso gut bei anaëroben wie bei aëroben Verhältnissen. Die fehlerhafte Erscheinung, welche Pseudomonas Cowardi im Hartkäse hervorruft, zeigt also eine gewisse Ähnlichkeit mit dem in Amerika häufig vorkommenden Käsefehler, welcher dort unter dem Namen „rusty spots“ bekannt ist. Ich glaubte auch zuerst, die Bakterie der „rusty spots“, Bacillus Rudensis, in den Händen zu haben, die nähere Untersuchung und der Vergleich mit einer Kultur dieser Bakterie — Herr Professor W. T. Cowell hatte die Liebenswürdigkeit, mir eine Kultur von Bacillus Rudensis zu übersenden — zeigten aber sofort, daß die beiden Mikroorganismen nicht identisch waren. Beide gehören zu den beweglichen Bakterien; Pseudomonas Cowardi besitzt eine polare lokalisierte Zilie, bei Bacillus Rudensis sind die Geißeln noch nicht nachgewiesen worden. Im folgenden werde ich auf einige kulturelle Unterschiede zwischen diesen beiden Bakterien aufmerksam machen:

---

[1]) 1906—07.

[2]) Huss, H., Durch einen Micrococcus hervorgerufene Gelbbraunfärbung von Hartkäse. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. 1907.)

Kulturelle Merkmale von Pseudomonas Cowardi.

Die bei der Untersuchung benutzten Nährböden hatten die gleiche Zusammensetzung wie die von mir bei einer früheren Arbeit[1]) gebrauchten. Alle Kulturen wurden bei einer Temperatur von 20° C gehalten.

Gelatineplatten.

1. Natürliche Größe.

a) Oberflächenkolonien.

In 6 Tage alten Kulturen sind noch keine Kolonien makroskopisch sichtbar. Nach 10 Tagen bemerkt man an der Oberfläche der Gelatine äußerst kleine, rötlich gelbe Kügelchen oder auch aus dem Substrat hervorragende Hörnchen, die man alle mit der Platinnadel herausfischen kann. Die Konsistenz der Bakterienmasse ist etwas schmierig; die Kolonien haften deshalb sehr leicht an der Nadel und lösen sich gänzlich von der feuchten Gelatineschicht los. Von der Seite gesehen, erscheinen die Kolonien als glasklare, rotgelbe Kügelchen; beim durchfallenden Licht sind sie ebenfalls ganz durchsichtig, rötlichgelb gefärbt. 14 Tage alte Kolonien sind matt goldgelb; von der unteren Seite der Kulturschale betrachtet, haben sie dasselbe Aussehen wie kleine, goldglänzende Harztröpfchen. Auf weißem Papier ausgebreitet, zeigt die Bakterienmasse eine gewisse Ähnlichkeit mit goldgelber Lackfarbe.

b) Tiefenkolonien.

Nach 10 Tagen sind die Tiefenkolonien makroskopisch erkennbar; sie erscheinen zu dieser Zeit als sehr kleine, gelbgraue Punkte, die nach 14 Tagen kaum größer geworden sind, dagegen nunmehr eine ebenso kräftige Färbung zeigen wie gleichaltrige Oberflächenkolonien.

2. Bei 60facher Vergrößerung.

a) Oberflächenkolonien.

Bei mikroskopischer Betrachtung sind die Kolonien schon am sechsten Tage als kreisrunde, äußerst kleine, rotgelbe Scheiben sichtbar. Nach 10 Tagen sind sie rostrot, stark lichtbrechend; ihr Aussehen erinnert an kleine,

---

[1]) Morphologisch-physiologische Studien über zwei aromabildende Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. 1907.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

in einer rotgelben Flüssigkeit eingeschlossene Luftblasen. Die Kolonien besitzen also eine dunkle Peripherie. Vierzehntägige Kolonien sind rundlich, mit einem glatten Rand versehen und rostrot gefärbt.

b) Tiefenkolonien.

Nach sechs Tagen ist das Aussehen der Tiefenkolonien demjenigen der Oberflächenkolonien ganz ähnlich; die Farbe der ersteren ist nur etwas lebhafter als bei den Oberflächenkolonien. In zehntägigen Kulturen besitzen die Tiefenkolonien eine deutliche, konzentrische Schichtung, sie sind feinkörnig gezeichnet und im allgemeinen fast kreisrund. Im Zentrum ist die Färbung derselben meistens etwas dunkler als in der Peripherie. Der Rand ist glatt. Die hier geschilderte Form und Farbe behalten die Kolonien auch im Laufe der späteren Entwicklung bei.

Agarplatten.

Sowohl die Oberflächenkolonien wie die Tiefkolonien der Agarplattenkulturen von Pseudomonas Cowardi zeigen eine so nahe Übereinstimmung im Aussehen mit den Kolonien der Gelatineplatten, daß ich von einer Beschreibung der Entwicklung derselben absehen kann. Die Farbe der auf Agarplatten gewachsenen Kolonien erscheint im allgemeinen mehr graugelb.

Gelatinestich.

An der Oberfläche der Gelatinesäule entwickelt sich allmählich ein kleiner fettglänzender, rötlichgelber Beleg, welcher sich ein wenig vom Substrate erhebt. Im Stichkanal ist die Entwicklung der Kultur auch nach längerer Zeit recht schwach; es entsteht hier nach und nach ein gelblicher oder rotgelber Streifen, der bis an den Boden des Kulturglases reicht. Die Gelatine wird von der Bakterie nicht peptonisiert.

1% Dextrose-Gelatinestich.

Die Entwicklung zeigt hier denselben Verlauf wie in der Stichkultur der gewöhnlichen zuckerfreien Gelatine.

Gelatinestrich.

Die Bakterie wächst hier wie in der Agarstrichkultur. Die Entwicklung vollzieht sich nur etwas langsamer auf diesem Nährboden als auf Agar. Die Kultur besitzt ungefähr dieselbe Färbung wie die Agarkultur.

Agarstrich.

Nach sechs Tagen hat sich ein schmaler, erhabener, gelbrot oder fast lachsrot tingierter, fettglänzender Beleg ausgebildet, welcher später noch erhabener wird. Die Ausbreitung des Beleges bleibt immer recht gering. Die Oberfläche der Kultur ist nach 16 Tagen matt oder hie und da fettglänzend, mit körnigen Erhöhungen, Falten und Runzeln versehen. Zu dieser Zeit besitzt der Strich eine kräftig braunrote Farbe.

Zum Vergleiche will ich hier erwähnen, daß Bacillus Rudensis, die Bakterie der „rusty spots“, auf Agar gezüchtet, einen hauchartig dünnen, kaum sichtbaren Beleg bildet, welcher nur, wenn man das Kulturglas gegen den blauen Himmel hält, eine schwache, kaum merkbare, rötliche Färbung aufweist. Legt man das Glas auf weißes oder schwarzes Papier, hebt sich die Rudensis-Kultur gar nicht von Agarsubstrat ab; sie ist unsichtbar.

Kartoffel.

Pseudomonas Cowardi wächst sehr gut auf Kartoffel. In sechs Tagen bildet die Bakterie auf diesem Substrat einen schmalen, fettglänzenden stark erhabenen, schön rotgelb gefärbten Beleg. Am sechzehnten Tage hat die Kultur fast dasselbe Aussehen wie ein gleichaltriger Agarstrich. Von nun an beginnt der stark erhabene Belag eine immer kräftiger werdende mahagonibraune Färbung anzunehmen. Die Farbe desselben wird bedeutend braunroter als die der Agarkultur. Nach einem Monat besitzt der Kartoffelstrich eine schöne, mahagonirote Farbe. Es ist zu dieser Zeit die Kultur mehr flach und ausgebreitet, nicht so erhaben wie am Anfang des Wachstums auf der Kartoffel.

Bacillus Rudensis bildet auf Kartoffel einen fast rein braunen Belag. Die Unterschiede zwischen Pseudomones Cowardi und Bacillus Rudensis sind also sowohl in der Agar- wie auch in der Kartoffelkultur auffallend groß. Eine Verwechselung der beiden Mikroben ist somit ausgeschlossen.

Bouillon.

Nach sechs Tagen fängt die Bouillon an, trübe zu werden; die Trübung ist aber äußerst gering. Ein ganz geringfügiger, farbloser Bodensatz von sandiger Beschaffenheit entsteht allmählich. In der obersten Schicht des Substrates bildet sich bald ein breiter, am Kulturglas haftender, schmutzig lachsrot tingierter Ring, welcher immer größer wird, um am zehnten Tage die ganze Glaswand wie eine graue Haut zu überziehen. Diese Bakterienhaut ist in der Nähe der Oberfläche der Flüssigkeit am stärksten ausgebildet, löst sich beim Schütteln vom Glase los und fällt in großen Splittern zu Boden. Die Splitterchen lassen sich nur mit größter Schwierigkeit und nur teilweise durch kräftiges Schütteln in der Bouillon verteilen. Nach einigen Wochen ist in Bouillonkulturen, die sich ohne Störung entwickeln dürfen, in der Nähe der Oberfläche des Substrates ein kleiner Kragen von Bakterien an der Glaswand ausgebildet, ein Häutchen, das lose in der Bouillon hineinhängt. Die Bouillon zeigt alkalische Reaktion.

Milch.

Pseudomonas Cowardi verhält sich vollständig inaktiv gegenüber Milch. Weder milchzuckervergärende, noch Lab- oder andere Enzyme die eine koagulierende Einwirkung auf die Milch haben, werden erzeugt. Die Milch nimmt nach längerer Zeit eine schwach alkalische Reaktion an. Nach einigen Wochen ist ein kräftiger Ring von rotgelber, beziehungsweise ockergelber Bakterienmasse in der obersten Schicht des Substrates entstanden. An der Glaswand sieht man hier und da kleine gelbgefärbte Ansammlungen von Bakterien; ein rotgelber Bodensatz entwickelt sich auch allmählich.

Nachweis von Indolbildung.

Eine mit einer Agarstrichkultur von Pseudomonas Cowardi geimpfte Lösung von Pepton 1 und Chlornatrium 0,5 in Wasser 100 gab, nach vierzehntägiger Entwicklung, mit Kaliumnitrit und Schwefelsäure violettrote Färbung. Die Bakterie ist somit Indolbildner.

Nachweis von Nitritbildung.

Vierzehntägige Kulturen von Pseudomonas Cowardi in einprozentigem Peptonwasser mit 1% Kaliumnitrat gaben keine Nitritreaktion.

Das Säurebildungsvermögen.

Für den Nachweis der Fähigkeit der Bakterie verschiedene Zucker- bezw. Alkoholarten zu zerlegen, benutzte ich 1% Peptonlösungen mit

0,5% Chlornatrium und 1% der betreffenden Zuckerart, bezw. des Alkohols, die mit einer jungen Agarstrichkultur geimpft wurden.

Vergoren wird nur Dextrose, Milchzucker und Mannit dagegen nicht.

Der Farbstoff von Pseudomonas Cowardi.

Schüttelt man etwas Kultur von einem Agarstrich mit absolutem Alkohol und filtriert die Flüssigkeit, zeigt sich, daß der Farbstoff der Bakterie in Alkohol löslich ist; dagegen bleibt Wasser, das in der gleichen Weise mit Bakterienkultur geschüttelt wird, vollständig farblos. Der Farbstoff ist in Wasser unlöslich.

Wenn eine Agarstrichkultur der Einwirkung von 25% Kalilauge ausgesetzt wird, nimmt dieselbe allmählich harzbraune Färbung an. Durch Behandlung mit 25% Schwefelsäure wird die mahagonirote Kultur zuerst lebhaft chromgelb, schließlich geht die Farbe in gelblichgrau über.

Sauerstoffbedürfnis.

Die Bakterie entwickelt sich ebenso gut bei anaerober wie bei aërober Züchtung. Die Farbe der über Pyrogallol und Kalilauge gehaltenen Kulturen ist meistens etwas heller als die unter aëroben Verhältnissen gezüchteten; sie sind nicht so kräftig rot, sondern mehr rostgelb gefärbt.

Ansprüche an Temperatur.

Das Wachstum von Pseudomonas Cowardi ist ebensogut bei 37° C wie bei 20°. Wie die meisten pigmentbildenden Mikroorganismen produziert auch Pseudomonas Cowardi bei 37° viel weniger Farbstoff als bei niedrigerer Temperatur. Die Kulturen, welche bei 37° gehalten werden, zeigen immer eine graugelbe Farbe, die in der späteren Entwicklung mitunter ein wenig lebhafter wird.

Die Widerstandsfähigkeit gegen Hitze.

Die Widerstandsfähigkeit der Bakterie wurde in folgender Weise geprüft: In Reagenzröhrchen mit je einem ccm sterilen Wassers wurden mit Agarstrichkulturen verschiedenen Alters Aufschwemmungen der Bakterie hergestellt. Diese Aufschwemmungen der Bakterie wurden nachher unter stetigem Umschwenken verschieden lange in Wasser von wechselnder Temperatur gehalten. Die Versuche ergaben als Resultat, daß Pseudomonas Cowardi nach fünfminutigem Verweilen in Wasser von 70° C abgetötet wird.

Morphologische Merkmale.

Pseudomonas Cowardi ist, wie ihr Name besagt, eine Stäbchenbakterie. Die Stäbchen haben wechselnde Länge und Breite. Die Größenmaße derselben sind nach der Färbung mit Karbolfuchsin für gewöhnlich die folgenden: Länge 0,8—1,6 μ, Breite etwa 0,4—0,6 μ. Die Individuen treten bald einzeln, bald in Verbänden von 2—4 Zellen auf. Die vierzelligen Verbände sind ziemlich selten. Recht oft bemerkt man in mit Karbolfuchsin tingierten Präparaten im Zentrum der Bakterienzellen einen kugeligen Körper, welcher größere Mengen des Farbstoffs absorbiert hat als das übrige Plasma. Dieser Körper macht fast den Eindruck, als ob es sich um Sporen handelte. Da man aber weiß, daß die Sporen der Bakterien im allgemeinen eine weit größere Resistenzfähigkeit, als die vegetativen Oidienformen derselben besitzen, darf man wohl auf Grund der im vorhergehenden erwähnten Versuche betreffend die Widerstandsfähigkeit der Bakterien gegen Hitze diese kugeligen Körperchen kaum als Sporen im gewöhnlichen Sinne ansehen. Vorläufig werden wir also Pseudomonas Cowardi als eine nicht sporulierende Bakterie betrachten müssen.

Eigenbewegung.

Zwei Tage alte Agarstrichkulturen bestehen zum größten Teil aus äußerst lebhaft beweglichen Stäbchen. Die Vorwärtsbewegungen werden teils geradlinig, teils und für gewöhnlich unter Windungen und Hinundherwackeln ausgeführt. Der Körper rotiert bei diesen Vorwärtsbewegungen gleichzeitig um seine Längs- oder Querachse oder wackelt mit dem einen Pol hin und her wie ein Uhrpendel, während der andere Pol anscheinend ganz still ist. Sehr oft zeigen die Stäbchen auch eine rotierende Bewegung an ein und derselben Stelle, der Körper kreiselt und wirbelt um seine eigene Querachse. Sowohl den mehrzelligen Verbänden wie den längeren Stäbchen fehlen oft die Eigenbewegung.

Die Bewegungen der Bakterie werden durch eine verhältnismäßig kurze, polar sitzende Geißel besorgt.

Färbbarkeit.

Die Bakterie läßt sich mit Karbolfuchsin sehr leicht und gut tingieren. Die Färbung nach Gram gibt positives Resultat.

Zusammenfassung der Resultate.

Die Arbeit gibt eine Charakteristik einer in einem englischen Hartkäse, „Cleveland-Käse“, gefundenen Bakterie, deren Anwesenheit wahrscheinlich die im genannten Käse beobachteten ,rotgelben oder rostfarbigen Flecken verursacht hat. Diese fehlerhafte Erscheinung kommt recht häufig in einigen Meiereien von Yorkshire, England, vor.

Die Bakterie, eine mit einer endständigen Geißel versehene, neue Pseudomonasart, erzeugt keine Sporen, wächst gut auf den gewöhnlichen Substraten sowohl bei aëroben wie bei anaëroben Verhältnissen und produziert einen rotgelben bis mahagoniroten Farbstoff, welcher in Alkohol löslich, in Wasser dagegen unlöslich ist. Indol wird gebildet, Nitrate werden nicht reduziert. Die Bakterie vergärt Dextrose, aber nicht Milchzucker oder Mannit. Weder Milch koagulierende noch proteolytische Enzyme werden gebildet.

Stockholm, Bakteriologisches Laboratorium des Pharmazeutischen Institutes, August 1909.

Nachdruck verboten.

Über die feinere Struktur der Hefen.

[Aus dem Hygienischen Institute der kgl. Universität Siena.
Direktor Prof. A. Sclavo.]

Von Dr. **D. Ottolenghi.**

(Ins Deutsche übertragen von Prof. Olivier von Negri aus Bologna.)

Mit 3 Figuren i. Text.

Bekanntlich ist von Golgi[1]) und seinen Schülern und später auch von anderen Forschern im Protoplasma verschiedener Zellenarten, insbesondere der Säugetiere, eine Struktureigentümlichkeit beschrieben worden, welche Golgi selbst inneren netzartigen Apparat (apparato reticolare interno) benannte. Jch habe mir unlängst vorgenommen, nachzuforschen, ob man auch bei den einzelligen Kleinwesen, welche die Bakteriologie besonders interessieren, wie Spaltpilze, Hefen und Protozoën, etwas diesem netzartigen Apparate Golgis Analoges nachweisen könnte.

In dieser vorliegenden Mitteilung will ich die bei Hefen, und zwar in 14 bis 20stündigen Agarkulturen von gewöhnlicher Preßhefe des Handels, erhaltenen Resultate mitteilen. Was die Technik anbelangt, so stützte ich mich auf die genauen und vollständigen Angaben, die in einer vor kurzem erschienenen Veröffentlichung Golgis[2]) enthalten sind, und verfuhr folgendermaßen: Der kulturelle Belag wurde dergestalt in ein wenig destilliertem Wasser aufgelöst, daß eine nicht zu dicke Emulsion erhalten wurde, welche alsdann auf Deckgläschen aufgestrichen wurde. Sobald das Wasser der Emulsion verdampft war, wurden die Gläschen in nachstehender Mischung 30' lang fixiert:

20-proz. Formalin	30 ccm
1-proz. Arsenigsäureanhydridlösung	30 ccm
Alkohol zu 96°	30 ccm;

dann wurden die Gläschen 30' hindurch in 1-proz. Silbernitratlösung gehalten, woraus sie in den Entwickler übertragen wurden, welcher in meinem Falle dieselbe Flüssigkeit war, die ich zur Entwicklung der photographischen Platten verwende, und zusammengesetzt wie folgt:

Wasser	300 ccm
Hydrochinon	2 g
Metol	0,5 g
Natriumsulfit	7 g
Natriumcarbonat	13 g
10proz. Kaliumbromidlösung	40 Tropfen.

Nachdem die Gläschen 10' lang der Wirkung des Entwicklers ausgesetzt geblieben waren, wurden sie in eine Mischung nachstehender zwei Lösungen, die im Augenblicke des Gebrauches zubereitet wurde, 10' hindurch getaucht:

Lösung A:	Natriumhyposulfit	30 g
	Ammoniumsulfocyanat	30 g
	Wasser	1000 ccm
Lösung B:	1proz. Goldchloridlösung	1000 ccm.

Die Gläschen wurden alsdann reichlich mit Wasser gewaschen, mit verdünnter Fuchsinlösung nach Ziehl oder Pyroninlösung schwach gefärbt und sodann nach Entwässerung in Balsam eingeschlossen.

---

[1]) Golgi, G., Opera omnia. Milano (U. Hoepli) und Boll. Soc. med. chirurg. di Pavia. 1909.

[2]) Boll. della Soc. med.-chirurg. di Pavia. 1908. Fasc. 2.

Im Innern der so behandelten Hefen (siehe die Abbildungen) kann man die eine oder die andere nachstehender Einzelheiten erkennen, welche ganz deutlich durch ihre tiefschwarze Färbung hervorstechen, nämlich:

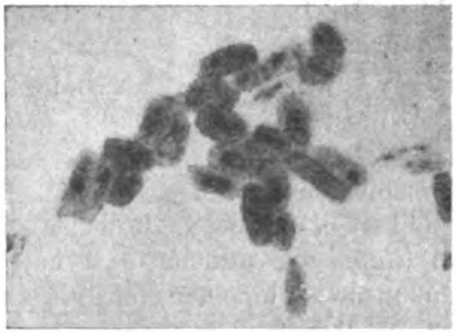


Fig. 1 (Vergrößerung: 1000 D).

1. Unregelmäßige, kleine Blöckchen oder Körnchen, die im ganzen Zellenkörper, besonders in den stäbchenförmigen Elementen verstreut, oder gruppenweise, vorwiegend an einem oder an beiden Polen des Elementes zusammengeschart sind.

2) Gebilde, welche ihrem allgemeinen Aussehen nach Kernen ähneln und aus Schollen und Körnchen bestehen, welche durch ziemlich dicke, bald geradlinige, bald gewundene Bälkchen mit einander verbunden sind. Diese Gebilde nehmen gewöhnlich nur $^1/_6$—$^1/_8$ des Zellenkörpers ein; sie erscheinen mit großer Regelmäßigkeit in den rundlichen und ovalen Elementen, aber nicht selten finden sie sich auch in den stäbchenartig verlängerten Formen vor, meistens zwei an beiden Enden des Stäbchens sitzend.

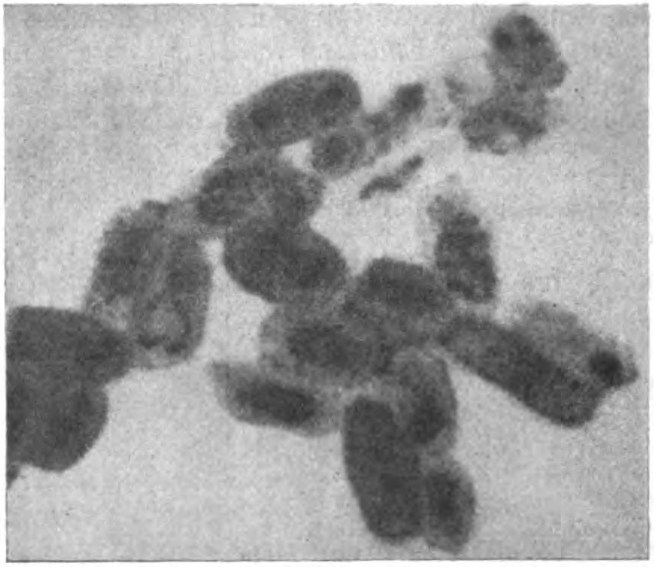


Fig. 1a (Die Fig. 1 viermal vergrößert).

3) Größere, ⅓—¾ des Zellenkörpers einnehmende, vornehmlich in den großen rundlichen oder ovalen Elementen erscheinende Gebilde, welche aus vielen feinen Körnchen bestehen, die durch kurze, ziemlich dicke, oder sehr dünne Fäden verbunden sind. Diese Fadenbildungen sind miteinander in Verbindung, so daß entweder ein Netz mit verschieden engen, hier und da unterbrochenen Maschen und mit verdickten Knotenpunkten, oder ein zarter Knäuel variköser Fäden entsteht.

Auf diese drei Typen lassen sich mit Leichtigkeit alle Bilder zurückführen, die man bei Betrachtung der Präparate wahrnimmt, wobei aber, wie ich schon gesagt habe, bemerkt werden muß, daß sich in jeder einzelnen Zelle nur ein einziger der drei beschriebenen Typen vorfindet.

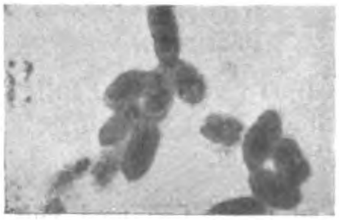


Fig. 2 (Vergrößerung: 1000 D.)

Wegen der Kleinheit der Hefenzellen ist es mir bis jetzt nicht möglich gewesen, genügende Angaben zu sammeln, um festzustellen, ob die oben erwähnten morphologischen Einzelheiten mit irgend einem der von Golgi und seinen Schülern beschriebenen inneren Netzapparate wirkliche Verwandtschaften aufweisen könnten, und ob sie sich etwa mit anderen Struktureinzelheiten der Sproßpilzelemente selbst, wie Vakuolen, Körperchen, welche gewöhnlich als Kerne betrachtet werden, Körnchen und gewisse höchst feine endozellulare Netzchen, die sehr leicht durch vitale Färbung mit Neutralrot nachgewiesen werden können, in irgend einem genauen Verhältnis befinden. Ich kann auch mit Bestimmtheit noch nicht aussagen, ob das verschiedenartige Aussehen der von der Reaktion mit Silbernitrat entwickelten Teile etwa nicht mit der funktionellen Tätigkeit des Sproßpilzes zusammenhängt, oder von der Tatsache abhängend ist, daß die Reaktion selbst in den verschiedenen Elementen mehr oder minder vollkommen und vollständig ausgefallen ist.

Ich erachte mich hingegen für berechtigt, zu behaupten, daß Körnchen, Netzchen und Knäuel, die bei der Behandlung mit Silbernitrat entwickelt werden, nicht nur vollständig intrazellular und von der Membran des Hefenelementes unabhängig sind, sondern auch fehlerhafter Fixierung nicht zugeschrieben werden können, denn Präparate, welche auf dieselbe Art und Weise zubereitet und fixiert werden, wie für die Silberimprägnation, aber z. B. mit Eisenhämatoxylin oder mit Lösung nach Giemsa gefärbt werden, weisen unter dem Mikroskope, außer einer leichten Zusammenschrumpfung der Zellenmembran, wie dies manchmal bei einigen Elementen geschieht, kein offenbares Anzeichen einer Veränderung der normalen Hefenstruktur auf.

Nachdruck verboten.

Über den biochemischen Kreislauf der Phosphorsäure im Ackerboden.[1])

[Aus dem kgl. landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium in Rom.]

Von Dr. **Renato Perotti.**

Das Studium des Kreislaufes der wirksamen Düngerbestandteile gehört ohne Frage zu denjenigen, welche auf dem Gebiete der Ackerbaukunde die besten Früchte getragen haben. Es genüge, in dieser Hinsicht daran zu erinnern, welche Erfolge der Erkenntnis der Zirkulation des Stickstoffs zu verdanken sind. Aber wenn wir von der Zirkulation dieses Elementes und von derjenigen des Schwefels und des Eisens absehen, an welcher sich als Faktoren von höchster Bedeutung die Mikroorganismen beteiligen, so können wir behaupten, daß wir von keinem anderen wirksamen Düngerbestandteil eine befriedigende, auf genau festgestellte Tatsachen gestützte und mit technischem Verständnis nutzbar gemachte Kenntnis des ihm eigenen natürlichen Kreislaufes besitzen.

In der Tat hat man, soweit mir bekannt, erst seit kurzem angefangen, im wahren Sinne des Wortes von einem Kreislauf des Phosphors im Ackerboden zu sprechen.

Solange man sich unter dem Einfluß der abiotischen Theorien befand, durch welche man die für die Zwecke des Ackerbaues notwendige Löslichmachung der Phosphorsäure zu erklären versuchte, hatte man, besonders wenn es sich um Pflanzen handelte, deren Wurzeln ein fast zu vernachlässigendes Lösungsvermögen für die natürlichen Phosphate besaßen, keine

---

[1]) Ins Deutsche übertragen von Dr. K. **Rühl**-Turin.

Grundlagen, um einen Kreislauf des Phosphors im Ackerboden festzustellen, um so mehr als die wenigen bekannten Tatsachen nur geringen Wert besaßen. Und auch nach den ersten Mitteilungen, welche als das Resultat jener eng begrenzten Arbeiten veröffentlicht wurden, mit denen man anfing, bei den oben erwähnten Erscheinungen der Löslichmachung das Element „Leben“ in Betracht zu ziehen, war man gleicherweise nicht in der Lage, in dem Einfluß der Mikroorganismen etwas anderes zu erblicken, als eine natürliche Erzeugung eines Superphosphates, um eine viel gebrauchte, aber meines Erachtens unangemessene Bezeichnung anzuwenden.

Nach den Ergebnissen meiner Studien hingegen muß man das, was das Leben und, wie ich hinzufüge, ausschließlich das Leben, im Ackerboden zuwege bringt, als einen wirklichen Kreislauf betrachten, der im wesentlichen nicht in der Erzeugung eines Superphosphates besteht, sondern in der abwechselnden Betätigung einer Löslich- und Unlöslichmachung der Phosphorsäure (wobei dem organischen Phosphor eine ganz besonders wichtige Rolle zufällt), welche, jede für sich, von schädlichen Folgen für den Ackerbau begleitet sein würde, wenn sie eben nicht mit einander abwechselten und wenn die Produkte der jeweiligen vielgestaltigen biochemischen Reaktionen nicht von kurzem Bestande wären.

Um aber diese Anschauungsweise, die mir von fundamentaler Bedeutung zu sein scheint, näher zu begründen, muß ich die Tatsachen, die sich mir aus einer langen Reihe von Versuchen in den letzten drei Jahren ergeben haben, zusammenstellen.

Bei der Kultur einer Phanerogame in Gegenwart einer sauren Phosphorsäurequelle beobachteten D. Meyer und D. Prianischnikow gewisse physiologische Störungen, die ich später eingehend beleuchtete, dabei aber sorgfältig jede bakteriologische Mitwirkung ausschloß, um die Tatsachen auf ihre reine Erscheinungsform zurückzuführen. Auch das Mono- und das Bicalciumphosphat zeigen sich, obwohl in beschränktem Maße, fähig, die Vegetation grüner Pflanzen mehr oder weniger stark zu beeinträchtigen. Aber auch die Entwicklung der Mikroflora erlitt durch dieselben Salze eine erhebliche Schädigung, wie aus den Versuchen, die ich als erster ausführte, klar hervorgeht. Die physiologische Wirkung des Tricalciumphosphats, einer fast völlig unlöslichen Phosphorquelle, die seit den Tagen Liebigs bis in die neuste Zeit als fast unverwendbar für die Pflanzen und im Ackerbau angesehen wurde, mußte im Vergleich zu den übrigen Orthophosphaten des Calciums ernstlich in Betracht gezogen werden, und zwar, wie ich glaube, zum ersten Mal unter einem theoretisch und praktisch gänzlich neuen Gesichtspunkt. Dies um so mehr, als es mir gelungen ist, nachzuweisen, daß durch die vereinigte Wirkung von Bakterien und höheren Pflanzen die Nährwirkung des basischen Calciumphosphats erheblich gesteigert wurde, selbst bei Organismen, denen bekanntermaßen nur ein ganz minimales Verdauungsvermögen für unlösliche Phosphate zukommt.

Diese Wirkung des Tricalciumphosphats wird durch zahlreiche Versuche anderer Forscher bestätigt, die ich hier anführen könnte, von Wagner bis Grandeau, von Märcker bis Menozzi; Versuche, welche infolge der von mir festgestellten Tatsachen eine bessere Deutung finden. Anderseits würde aber auch die Kritik dazu führen, die Wichtigkeit der mikroorganischen Mitwirkung bei der Ernährung der Pflanze richtig einzuschätzen. Daraus ergibt sich somit logischerweise der Schluß, daß man die

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

mikrobischen Verhältnisse des Kulturbodens künstlich steigern muß, um die Bestätigung der festgestellten Tatsachen vor Augen zu führen. Die zu dem Zweck angestellten Versuche bestätigten vollständig meine Vermutungen. Wenn man dem Boden eine organische Substanz beimengte, die den Bakterien als Nahrung dienen konnte, so steigerte sich die kulturelle Ausnutzung der unlöslichen Phosphate von Calcium und Eisen, weniger die des Aluminiumphosphats.

Man kann also den Einfluß der Mikroflora auf die Aufnahme der unlöslichen Phosphate durch die höheren Pflanzen nicht in Abrede stellen, wie man anderseits auch nicht leugnen kann, daß das Superphosphat einen günstigen Einfluß auf die Erträgnisse des Ackerbodens ausübt. Wir müssen also untersuchen, in welchen Grenzen der letztere sich abspielt, um die Prinzipien festzustellen, welche wir aus dem ersteren ableiten wollen.

Bei der Wirkung der Superphosphate müssen wir vor allem einen Teil unterscheiden, der von dem Prozentgehalt an Phosphorsäure und von der Form, in der diese vorliegt, unabhängig ist. Dies ist die Wirkung ihrer Acidität, durch welche Bodenbestandteile in Lösung gehen können, die der Ernährung der Pflanzen nützlich sind. Doch dürfen wir dabei nicht vergessen, daß diese selbe Wirkung zugleich in kürzerer oder längerer Zeit zu einer Verarmung des Bodens führen kann. Um aber zu diesen Resultaten zu gelangen, ist es, soweit dies zweckmäßig erscheinen kann, nicht nötig, sich der Superphosphate zu bedienen, deren Wert nach dem jetzt geltenden Übereinkommen ausschließlich nach dem Prozentgehalt an wasser- und citratlöslicher Phosphorsäure festgestellt wird.

Was aus dem Phosphor in dieser Form in einem normalen, d. h. alkalisch reagierenden Ackerboden (in einem anderen Boden ist der Anbau unmöglich und die Düngung mit Superphosphat nicht anwendbar) wird, ist bekannt. Es bestehen Meinungsverschiedenheiten unter den Agronomen hinsichtlich der Zeitdauer, und in dieser Beziehung liegen wahrscheinlich von Fall zu Fall tatsächliche Verschiedenheiten vor, aber die Tatsache ist sicher, daß in der Regel die lösliche Phosphorsäure des Superphosphats in verhältnismäßig kurzer Zeit unlöslich wird. Aus diesem Grunde, der durch eine lange Praxis und durch die Kritik der Tatsachen sichergestellt ist, kann es nunmehr als ausgemacht gelten, daß beinahe die ganze Wirksamkeit der Superphosphate darauf zurückzuführen ist, daß sich infolge ihrer Anwendung das Phosphatmaterial im Erdboden in feinster Verteilung vorfindet.

Um dieses Resultat zu erreichen, scheint es mir — abgesehen höchstens von übermäßig harten Mineralien — doch wirklich nicht nötig, zu einer kostspieligen Fabrikation, wie es die der Superphosphate ist, seine Zuflucht zu nehmen, um so mehr als man durch feines Zermahlen der natürlichen Phosphate und mit künstlich hergestellten basischen Phosphaten nicht weniger gute Erfolge erzielt hat. Ferner hängt die Ausnutzung der Phosphorsäure in den Superphosphaten noch von einer anderen, für den guten Erfolg der Düngung äußerst wichtigen Bedingung ab, von dem Zeitpunkt — in Bezug auf die Vegetationsperiode der angebauten Pflanze — in welchem das Material ausgestreut wird. Es ist nachgewiesen, daß die Wirksamkeit der Phosphorsäure während der Kultivationsperiode sehr schnell abnimmt, und es kann vorkommen, daß sie gerade dann fehlt, wenn sie am nötigsten wäre, nämlich zur Zeit der Blüte und während der Reifung des Samens. Diese Erscheinung hängt aufs genaueste mit der fundamentalen Tatsache des Rückganges der Phosphorsäure zusammen, welcher, abgesehen davon, daß es unvermeidlich ist, auch notwendig erscheint, um jene physiologischen Störungen der angebauten Pflanzen sowohl als der Bakterien zu verhindern, welche eintreten würden, wenn nicht die vielgestaltigen Einflüsse des anbaufähigen Bodens es bewirkten, daß die physiologische Wirkung der sauren Phosphate nicht in ihrer reinen Form zum Vorschein kommen können.

Man muß also die Bedeutung zweier Tatsachen richtig bewerten, wenn man die Wirkung des Superphosphats verstehen will: Den Rückgang der Phosphorsäure und den schädlichen Einfluß der Acidität des Düngstoffes. Die eine sowohl wie die andere spricht gegen seine Anwendung, denn beide bedingen die Notwendigkeit, daß die Phosphorsäure in eine unlösliche Form zurückkehrt, die allerdings einigermaßen von der ursprünglichen verschieden, immerhin aber an und für sich den Pflanzen nicht zugänglich ist.

Es müssen deshalb andere Umstände hinzutreten, welche die Aufnahme erleichtern, ganz besonders bei denjenigen Pflanzen, deren Wurzeln nachgewiesenermaßen ein sehr geringes Lösungsvermögen besitzen. Diese Umstände sind in jenem Komplex mikroorganischer Tätigkeiten zu suchen, die ich im Verlauf des zweiten Teils meiner Arbeit zu beleuchten unternommen habe. Durch meine diesbezüglichen Untersuchungen glaube ich mich zu der Behauptung berechtigt, daß es gegenüber den rein chemischen Wirkungen, welche die Phosphorsäure in unlösliche Form überführen, eine Anzahl biochemischer Agentien gibt, die dahin streben, sie wieder in die lösliche assimilierbare Form überzuführen. Diese letzteren bilden in ihrer Gesamtheit einen äußerst wichtigen Faktor, der sowohl bei der Betätigung der Düngewirkung des zurückgegangenen Superphosphats als auch bei derjenigen der natürlichen Phosphate seine Rolle spielt. Ein Unterschied von hervorragender Bedeutung ist hervorzuheben zwischen der chemischen künstlichen Aufschließung der Phosphate und der biochemischen natürlichen, denn, während die erstere von begrenzter Dauer ist und nicht mit der Feinheit reguliert werden kann, deren nur die lebenden Organismen fähig sind, hat die letztere im Gegenteil eine unbegrenzte Dauer, solange dynamogenetische Substanzen zu ihrer Verfügung stehen — was man durch langsam zersetzliche Substanzen erreichen kann — und reguliert sich nach Maßgabe des Bedarfs der Mikroorganismen, welche ihre Tätigkeit einstellen, wenn der Säuregrad des umgebenden Mittels eine bestimmte Grenze erreicht, um sie wieder aufzunehmen, sobald durch Einwirkung anderer Ursachen, die Acidität geringer wird.

In dieser Weise fasse ich deshalb die Mitwirkung der Mikroorganismen bei der Ausnutzung der Phosphate auf. Sie erzeugen lösliche Phosphorsäure aus den unlöslichen Phosphaten verschiedener Natur, auch aus den widerstandsfähigsten, und regulieren die Acidität, eine der wichtigsten — jedoch nicht die einzige — Ursachen der Löslichkeit in einer Weise, daß sie weder ihnen selbst, noch der höheren Pflanze schädlich werden kann, welch' letztere also in der Lage ist, sich die mikrobiochemische Tätigkeit zunutze zu machen. Wenn die Tätigkeit der Mikroorganismen eine Unterbrechung erfährt, so gewinnen, unabhängig von den Ernährungserscheinungen der höheren Pflanze, die physikalisch-chemischen Ursachen wieder die Oberhand und ermöglichen, indem sie die Phosphorsäure in den unlöslichen Zustand überführen, eine neue mikroorganische Tätigkeit. Aufschließung und Fixierung der Phosphorsäure wechseln ab, wie ich oben erwähnte, zum größten Vorteil der Kulturpflanze, weil hierdurch der Phosphorsäure eine langsame, kontinuierliche und physiologisch unschädliche Beweglichkeit gesichert wird.

Die Prinzipien, welche nach dem Ergebnis meiner Studien die biochemische Aufschließung der Phosphate im Erdboden regeln, sind folgende:

1) In den Böden, in denen sich mikroorganische Prozesse abspielen, kann eine wesentlich von diesen abhängige Löslichmachung der Phosphorsäure eintreten.

2) Auf diese bakteriellen Lösungserscheinungen hat die Gegenwart von Kohlehydraten in den Kulturböden einen bemerkenswerten Einfluß.

3) Der Einfluß der Disaccharate auf die Aufschließung der Phosphorsäure ist größer als der der Monosaccharate.

4) Unter den Disaccharaten ist der Rohrzucker befähigt, die besten Resultate zu liefern, sowohl hinsichtlich der Intensität als hinsichtlich der Dauer der lösenden Wirkung.

5) Die für das Auftreten dieser Erscheinungen passendste Konzentration entspricht 2 Proz. Rohrzucker.

6) Die Intensität und die Dauer sind zwei correlative Faktoren dieser Erscheinungen.

7) Für ein und dasselbe Kohlehydrat ist die Wirkung innerhalb bestimmter Grenzen konstant.

8) Die Stickstoffquelle in den bakteriellen Kulturen hat ebenfalls einen großen Einfluß auf die in denselben sich abspielenden Lösungserscheinungen der Phosphorsäure.

9) Die Ammoniumsalze im allgemeinen, da sie physiologisch sauer sind, begünstigen sie in bemerkenswertestem Maße sowohl hinsichtlich der Intensität, als auch hinsichtlich der Dauer.

10) Kaliumnitrat, welches in physiologischem Sinne alkalisch ist, gehört zu den am wenigsten aktiven Stickstoffquellen.

11) Das Sulfat und das Chlorid des Ammoniums sind die wirksamsten unter den Ammoniumsalzen.

12) Das Ammoniumsulfat ist wirksamer als das Chlorid.

13) Ammoniumtartrat, obwohl seine beiden Ionen in gleicher Weise von den Mikroorganismen assimiliert werden können, steht in seiner Wirkung weit hinter dem Sulfat und Chlorid zurück.

14) Ammoniumnitrat entfaltet je nach den Umständen eine positive oder negative Wirksamkeit, jedoch im allgemeinen nur in beschränktem Maße.

15) Mit der Konzentration wächst die lösende Wirkung der Ammoniumsalze, jedoch nicht über einen Prozentgehalt von 1—2 Proz. in der Nährlösung hinaus.

16) Auch die Basen haben einen bemerkenswerten Einfluß auf die Löslichmachung der Phosphorsäure in den Bakterienkulturen.

17) Der Einfluß der Basen ist je nach der Natur des Elements und nach seinem Verbindungszustand verschieden.

18) Die Carbonate von Calcium und Magnesium beeinträchtigen in starkem Maße die lösende Tätigkeit der Bakterien, das letztere jedoch weniger als das erstere.

19) Wenn die Basen in gelöstem Zustande zugegen sind, so tritt ihre schädigende Wirkung besonders stark hervor und kann bis zur Aufhebung des bakteriellen Aufschlusses der Phosphorsäure gehen.

20) Aluminiumhydroxyd beeinträchtigt die in Rede stehende Erscheinung weniger.

21) Das Eisenoxyd ist unter den basischen Bodenbestandteilen derjenige, welcher die Beweglichkeit der Phosphorsäure am wenigsten beeinträchtigt.

22) Auch die Wirkung der oligodynamischen Elemente macht sich in der bakteriellen Aufschließung der Phosphorsäure bemerkbar.

23) Ihre Wirkung ist je nach ihrer Natur und ihrem Lösungszustand verschieden. Am aktivsten sind die chemischen Elemente mit geringem Atomgewicht in unlöslicher Form.

24) Es gibt Bakterienarten, welche die Phosphorsäure löslich machen, und andere die sie unlöslich machen, indem sie selbst sie ausnutzen. Es treten jedoch andere Tatsachen hinzu, welche die anfangs der Lösung entzogene Phosphorsäure ihr in löslicher Form wieder zuführen.

25) Es gibt keine spezifischen Bakterienarten für die Löslichmachung der Phosphorsäure.

26) Nur die in hohem Grade säureerzeugenden Arten führen starke Mengen Phosphorsäure in Lösung.

27) Die die Phosphorsäure auflösenden Erscheinungen in den bakteriellen Kulturen sind vorwiegend als eine Summe von Einzeltätigkeiten verschiedener Natur aufzufassen, die sich gegenseitig summieren und ergänzen.

28) Viele Bakterienarten, auch unter den im Erdboden verbreitetsten, können erhebliche lösende Eigenschaften annehmen, wenn durch eine Änderung in der Zusammensetzung der Nährlösung die Bedingungen gegeben sind, daß die unmittelbaren Ursachen der Erscheinung sich verwirklichen.

29) Unmittelbare Ursachen der bei der Löslichmachung der Phosphorsäure in bakteriellen Kulturen auftretenden Erscheinungen sind: die Erzeugung von Säuren, die sekundären Reaktionen

der Lösung, die Erzeugung löslicher phosphorhaltiger organischer Substanz.

Die Feststellung dieser Tatsachen führte ohne weiteres zu den praktischen Folgerungen, deren Grundlagen ich in der gegenwärtigen Arbeit aufzustellen unternommen habe: Ersatz der Superphosphate, Anwendung dynamogenetischen Materials, um die Tätigkeit der Mikroorganismen bei der Düngung mit feingemahlenen natürlichen Phosphaten zu erhöhen. Bevor ich jedoch hierauf noch einmal vom theoretischen Standpunkt aus zurückkomme, halte ich es für zweckmäßig, die Grenzen festzustellen, innerhalb derer sich der biochemische Kreislauf der Phosphorsäure im Ackerboden abspielt.

Als ich den Mechanismus der biochemischen Erscheinungen der Phosphate studierte, stellte ich fest, daß wenigstens drei Ursachen dabei unmittelbar mitspielen: Die Erzeugung von Säure, die sekundären Reaktionen des Mittels, die Bildung löslicher phosphorhaltiger organischer Substanz. Dank den beiden ersteren ist das Resultat der Lebenstätigkeit der Bakterien die Bildung saurer Phosphate, dank der letzteren die Bildung mehr oder weniger komplexer phosphor-organischer Substanzen infolge des Stoffwechsels der Mikroorganismen. Wenn wir allgemein als basiches Phosphat das im Erdboden unlösliche Phosphat bezeichnen, so ergeben sich als äußerste Grenzen des Kreislaufes des Phosphors im Boden auf der einen Seite das basische Phosphat, auf der andern das saure Phosphat und die phosphorhaltige organische Substanz. Das erstere hat einen primären Ursprung, die beiden anderen einen sekundären; beide jedoch machen im Erdboden eine ihnen eigentümliche Entwicklung durch, welche gesondert betrachtet werden muß.

Das basische Phosphat wird mit Hilfe der Mikroorganismen zu saurem Phosphat, wobei es ein mittleres Stadium durchläuft, welches ich ganz im allgemeinen als neutrales Phosphat bezeichne. Das saure Phosphat als solches, wenn nicht ein äußerer Faktor hinzukommt, welcher die dem Säuregrade und dem bakteriellen Leben angepaßte Beziehung zu Gunsten dieses letzteren verschiebt, kehrt, wenn die Ursache seiner Existenz aufhört, mit dem Überwiegen der rein chemischen und physikalischen Reaktionen durch den neutralen in den basischen Zustand zurück. Es vollzieht also einen Kreislauf ganz für sich, d. h. unabhängig von demjenigen der anderen Phosphorform.

Die organische phosphorhaltige Substanz hingegen zeigt ein etwas verschiedenes Verhalten, denn sie unterliegt nicht dem Rückgang, und obwohl man annehmen darf, daß sie zum Teil mineralisiert werde, so muß dies doch nicht notwendigerweise eintreten. In einem Zustand mehr oder weniger vorgeschrittener Zersetzung kann sie direkt von den neuen Lebensformen assimiliert werden, die in einem mit Energiequellen in angemessener Menge versehenen Boden unaufhörlich auf einander folgen. Auch sie vollbringt einen, seiner Natur nach von dem vorigen verschiedenen Kreislauf, der vom agronomischen Standpunkt aus ohne Zweifel interessanter ist als der erste. Es scheint mir nicht am Platz, in agronomischer Hinsicht einen Unterschied zwischen löslicher und unlöslicher phosphorhaltiger organischer Substanz im Ackerboden zu machen. Viele organische Verbindungen des Phosphors sind löslich oder werden es leicht durch teilweise oder vollständige Verseifung der großen molekularen Gruppen, an deren Bildung dieses Element häufig beteiligt ist.

Einmal in organische Form übergeführt, möge sie löslich oder unlöslich sein, ist der Phosphor auch als eine an Calorien reiche Substanz anzusehen, welche gegenüber dem mineralischen Phosphor in agronomischer Beziehung immer einen sehr hohen Wert hat.

An dieser Stelle, glaube ich, ist es am Platz, die Beziehungen hervorzuheben, welche zwischen den beiden vorerwähnten Kreisläufen, dem organischen und dem mineralischen, der Phosphorsäure im Erdboden bestehen.

Es müssen fortlaufende Beziehungen der Umwandlung bald in dem einen, bald in dem entgegengesetzten Sinne zwischen den beiden Kreisläufen bestehen, infolge deren die eine Form des Phosphors mehr oder weniger mittelbar in die andere übergehen kann. Sie sind bald jenen Formen autotrophen Lebens zuzuschreiben, welche die Synthese der phosphorhaltigen organischen Substanz aus den Elementen oder den einfacheren Verbindungsformen bewirken, bald jenen anderen Formen heterotrophen Lebens, welches sich auf Kosten der praeformierten komplexen organischen Verbindungen äußert, insofern als in diesem letzteren Falle gerade das Entgegengesetzte eintritt. Der mineralische Phosphor kann infolge dieser Umstände in jedem Stadium seines Kreislaufes in die organische Form übergehen, ebenso wie diese sich zu jeder Zeit in die mineralische umwandeln kann. Die organischen Verbindungen des Phosphors, die im Gegensatz zu den unorganischen ein Material darstellen, welches als Energiequelle dienen kann, haben durch die Herstellung jener Beziehungen und der bezüglichen Erscheinungen des mikroorganischen Lebens die größte Bedeutung, denn sie ermöglichen die Umwandlungen gerade in dem Sinne — vom organischen zum unorganischen — welcher in letzter Instanz für den Ackerbau ungünstig ist. Beiläufig muß hier übrigens bemerkt werden, daß es vorteilhaft ist, entsprechend dem Grundgedanken dieser Arbeit, den Mikroorganismen ein anderes, ihrem Stoffwechsel mehr entsprechendes dynamogenetisches Material (Kohlehydrate) zuzuführen, dadurch die Betätigung der biochemischen Reaktionen in umgekehrter Richtung zu begünstigen und die phosphororganische Reserve des Erdbodens zu schonen.

⁂

Neben dem Kreislauf des Phosphors im Boden geht ein anderer in der Welt der höheren organisierten Wesen, Pflanzen und Tiere einher, der schon seit langer Zeit in den Schatz unserer allgemeinen Kenntnisse über den Haushalt der Natur aufgenommen ist und der zugleich mit dem beschriebenen den Endzielen des Ackerbaus nutzbar gemacht werden kann. Die Pflanzen, synthetische Organismen, welche vorwiegend auf Kosten der Mineralreserve des Bodens leben, und die Tiere, Organismen die im Gegenteil auf den Abbau der von jenen aufgebauten organischen Produkte angewiesen sind, geben auch für den Phosphor, ebenso wie für die anderen die Fruchtbarkeit befördernden Elemente, Veranlassung zu einer Umwandlung, der die große Phosphorreserve des Bodens tributpflichtig ist. In der Pflanze kann der Phosphor, obwohl er zum großen Teil aus mineralischen Verbindungen stammt, auch einen unmittelbar organischen Ursprung haben. In beiden Fällen wird er, je nach den spezifischen Eigentümlichkeiten des Organismus, zum Aufbau komplexer Verbindungen von mehr oder weniger verschiedener chemischen Konstitution verwandt, welche entweder direkt in organischer Form in die Erde zurückwandern und in den oben beschriebenen Kreislauf des organischen Phosphors im Boden eintreten, oder indirekt, d. h. durch Vermittlung der Tiere in mineralischer Form in den Kreislauf des inorganischen Phosphors. Die Zirku-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

lation in der Pflanze bleibt offen, der Phosphorstrom kann in ihr nicht wieder zum Ursprung zurücksteigen ohne Vermittlung des Bodens, in dem sich die in einem großen Teil meiner Arbeit beschriebenen Kreisläufe abspielen, welche ihrerseits ihre Bahnen in jeder Richtung durchlaufen oder vielmehr verschiedene Berührungspunkte haben können. Die Regulierung des Kreislaufes der Phosphorsäure im Boden bildet somit den Grundpfeiler für die Ernährung der angebauten Pflanze, und ist eine Aufgabe, die ohne Frage dem Landwirt zufällt.

Ich hoffe, daß andere Autoren und ich selbst in der Lage sein werden, später neue experimentelle Daten beizubringen, um diese Begriffe, welche den Stand unserer heutigen Kenntnisse über den Zyklus der Phosphorsäure im Boden darstellen sollten, entgültig festzustellen; inzwischen sind, kurz zusammenfassend, die Grundlagen, auf welche die verschiedenen Elemente derselben sich stützen, die folgenden:

1) Hinsichtlich der Erzeugung der sauren Phosphate meine Untersuchungen und die Studien von Quartaroli und von Prianischnikow.

2) Hinsichtlich der Bildung phosphorhaltiger organischer Substanz meine Untersuchungen und die Studien von Aso und von Dumont.

3) Hinsichtlich der direkten Aufnahme der phosphorhaltigen organischen Substanz durch die Bakterien die Studien von Stoklasa und einige meiner noch unbeendigten Untersuchungen, über die ich später berichten werde.

4) Hinsichtlich der synthetischen Tätigkeit der Pflanze und der abbauenden des Tieres gegenüber den Phosphorverbindungen die gegenwärtig Gemeingut gewordenen physiologischen und biologischen Kenntnisse.

Ein einziger dieser vier Punkte verdient eine nähere Beleuchtung, nämlich der, welcher sich auf die direkte Mitwirkung des organischen Phosphors bei der Phosphorernährung der Pflanzenorganismen bezieht.

Es wäre mein lebhafter Wunsch gewesen, den übrigen Teilen dieser Arbeit auch denjenigen beizufügen, welcher sich auf die Untersuchungen bezieht, die ausdrücklich zu dem Zweck angestellt wurden, diesen Punkt aufzuklären, der unstreitig von großer Bedeutung, aber bis jetzt, man kann sagen, noch vollständig in Dunkel gehüllt ist. In der Tat besitzen wir nur die einzige oben erwähnte Arbeit von Stoklasa, durch welche nachgewiesen wurde, daß die Glyzerinphosphorsäure und das Lecithin von den Wurzeln der Pflanzen aufgenommen werden können aber man kann den Zweifel nicht von der Hand weisen, daß diese Tatsache der Mitwirkung bakterieller Tätigkeit zu verdanken sein könne, durch welche eine Abspaltung von Phosphorsäure eingetreten sei.

Auf der andern Seite kennt man die Wirkung der Bakterien auf das Lecithin zu wenig, um sich ein Urteil, sei es über die Möglichkeit, sei es über die Notwendigkeit einer so tiefgehenden Spaltung der phosphorhaltigen organischen Moleküle unter den Bedingungen seiner Versuche zu bilden.

In einer Arbeit von Ruata und Caneva finden wir, daß das Lecithin unter dem Einfluß des Bac. mesentericus, des Bac. prodigiosus und auch der Choleravibrionen sich in Cholin, Glyzerinphosphorsäure und Fettsäure spaltet. Aber bis jetzt fehlt die Bestätigung dieser Angabe.

Der schon recht beträchtliche Umfang der vorhergehenden Untersuchungen hat mich verhindert, das ganze Programm meiner hierauf bezüglichen

Forschungen zur Ausführung zu bringen. Jedoch kann ich schon jetzt, gestützt auf eine Reihe von Tatsachen, über die ich verfüge, mitteilen, daß die direkte Assimilierung des organischen Phosphors bei der Ernährung der Bakterien und auch der höheren Pflanzen unter bestimmten Bedingungen möglich ist.

Ich komme nunmehr auf die praktischen Folgerungen aus allen meinen Untersuchungen zurück.

Wenn wir zugeben müssen, daß die eigentümliche Wirksamkeit des Superphosphats sich auf einen kurzen Zeitraum beschränkt, daß die weitere Ausnutzung der in ihm enthaltenen Phosphorsäure nur mit Hilfe des bakteriellen Aufschlusses bewirkt werden kann, daß ferner ein sehr erheblicher Teil derselben, die zu den wichtigsten Nährmitteln der Pflanze zählt, häufig unausgenutzt bleibt; wenn wir, wie speziell nachgewiesen wurde, zugeben müssen, daß auf der andern Seite die Mikroorganismen sehr schätzbare Eigenschaften besitzen, von hervorragendem Wert für die Überführung der natürlichen, oder allgemein ausgedrückt, im Wasser und auch im Citrat unlöslichen Phosphate in assimilierbare Form, und daß diese Eigenschaften künstlich und mit dem nötigen ökonomischen Vorteil gesteigert werden können, so ergibt sich klar und unmittelbar die Notwendigkeit, in der Praxis die Fälle festzustellen, in denen es möglich ist, unter Ausschluß des Superphosphats aus der Düngetechnik den Bedürfnissen der Phosphorernährung der Kulturpflanze zu genügen, entweder durch unlösliche und deshalb billigere Phosphate oder durch rationelle Ausnutzung des Phosphatbestandes im Boden, der dort entweder schon auf natürlichem Wege existiert oder durch fortgesetzte Verwendung von Superphosphat oder einem anderen Dungstoff ähnlicher Natur künstlich hineingebracht ist.

Dies ist die allgemeine Schlußfolgerung, die ich aus der ganzen Arbeit ziehe.

Es würde sich also darum handeln, in den Fällen, wo die Möglichkeit bestände, die biochemische Methode auf die Löslichmachung der Phosphorsäure in den Phosphaten und im Boden anzuwenden¹), eine mehr oder weniger

---

¹) In einem dritten und letzten Teil meiner Arbeit habe ich mir vorgenommen, die Grundlagen einer Methode festzustellen, um den Bedarf der anbauwürdigen Böden an Phosphorsäure und die Assimilierbarkeit sowohl der ursprünglich in ihnen vorhandenen als auch der durch die Düngung hineingebrachten zu ermitteln in bezug auf die Tatsachen, die sich aus den in den vorausgegangenen Teilen dieser Arbeit mitgeteilten Studien ergeben. Nachdem die Bedingungen festgestellt sind, unter denen es mit Hilfe der mikroorganischen Tätigkeit gelingt, die ganze in einem gegebenen Gewicht Tricalciumphosphat enthaltene Phosphorsäure in Lösung zu bringen, und wenn man, da aus dem günstigeren Verlauf der Arbeit hervorgeht, daß die bestimmende Ursache der Erscheinung wesentlich durch die Natur und die Menge des von den Mikroorganismen ausnutzbaren Kohlehydrats gegeben ist, an Stelle dieses letzten ein äquivalentes Gewicht einer Erdprobe setzt, ohne irgend eine der übrigen Bedingungen in den Kulturen zu ändern, so wird das Verhältnis zwischen der in Lösung gegangenen Menge Phosphorsäure und der gesamten ursprünglich in der Kulturflüssigkeit enthaltenen mit befriedigender Annäherung den Assimilierbarkeitswert der in jener Bodenprobe enthaltenen oder in dieselbe eingeführten Phosphate darstellen. In derselben Weise wird, wenn wir statt des Kohlehydrates, das Tricalciumphosphat durch ein gleiches Gewicht eines phosphorsauren Düngers ersetzten, das Verhältnis zwischen der löslich gemachten Phosphorsäure und der ursprünglichen Gesamtmenge von dieser den Assimilierbarkeitswert des Düngers darstellen.

große Menge dynamogenetischen Materials in den Boden zu bringen, um die funktionelle Wirksamkeit der Mikroorganismen in Bezug auf die Löslichkeitsverhältnisse der Phosphorsäure zu steigern und also im Ackerboden einen passenden Bestand an organischer Substanz in besonders geeigneter Form (Kohlehydrate) zu schaffen, welcher der erste, wenn nicht einzige Faktor für die Ausnutzung der Phosphorsäure ist, statt — wie es bisher geschehen ist — den Boden mit Phosphatmaterial anzureichern, welches für sich allein nicht ausgenutzt werden kann.

Dieses Prinzip würde den Weg zur Lösung einer Reihe von Fragen öffnen.

Vor allem, bis zu welchem Punkt, unter Berücksichtigung des fundamentalen Gesetzes des Minimums, die biochemischen Lösungsreaktionen der Phosphate getrieben werden können. In welcher zweckmäßigsten Form der Bestand an Kohlehydraten im Ackerboden geschaffen werden könne, ob durch Unterpflügen grüner Saat oder nicht, mit welcher Pflanze und an welchem festzustellenden Punkt des Fruchtwechsels. Welche günstige Mitwirkung von dem Einfluß der Natur der Stickstoffdüngung und von dem festzusetzenden Verhältnis zwischen dieser und der Phosphatdüngung bei den auf die Assimilierbarkeit der Phosphorsäure Bezug habenden mikroorganischen Prozessen zu erwarten sei. Wie weit man bei diesen selben Prozessen auf den Einfluß der Ergänzungsdüngungen, besonders mit den oligodynamischen Elementen, rechnen könne. Bei welchen natürlichen Phosphaten man sich am besten die Umwandlung in Superphosphat ersparen könne. Bei welchen Kulturpflanzen das oben erwähnte Prinzip eine nützliche Anwendung finden könne, bei den Leguminosen, den Gramineen oder den Kruziferen oder bei welchen anderen sonst. In welchen Bodenarten, je nach ihrer physicochemischen Natur, die biochemischen Lösungsprozesse der Phosphate sich abspielen können. Welche Beihilfe von irgend einem anderen Agrikulturverfahren und seiner Anwendung mit Bezug auf die über diese Prozesse erworbenen neuen Kenntnisse zu erwarten sei usw. usw.

Es ist zu hoffen, daß im Interesse der Praxis der Phosphatdüngung die Antwort auf diese und andere Fragen, die man in dieser Hinsicht stellen könnte, nicht auf sich warten lasse und daß andere Forscher, denen umfangreichere Mittel zur Verfügung stehen, sich mit mir verbinden möchten zur Anstellung weiterer Untersuchungen, um sie zu beschleunigen. Die experimentellen Grundlagen, die ich den oben entwickelten Prinzipien gegeben habe, berechtigen mich zu der Annahme, daß meine daran geknüpften Hoffnungen nicht ganz unerfüllt bleiben, soweit es sich um die praktischen Anwendungen handelt, welche das schönste Ziel jedweden Studiums sind.

Nachdruck verboten.

The Occurrence and Distribution of Organisms similar to the B. Bulgaricus of Yogurt.

[From the Bacteriological Laboratories of the University of Wisconsin, Madison. Wis.]

By **E. G. Hastings** and **B. W. Hammer.**

The importance of the lactic acid fermentations has long been recognized and the various organisms causing these fermentations of milk have been studied in detail. Within the last few years attention has been directed, on

account of the work of Metchnikoff, to a supposedly new group of bacteria causing an acid fermentation of milk. In brief this group of organisms is characterized by the ability to produce much larger amounts of acid in milk than are ever formed by the organisms belonging to the ordinary types of acid-forming bacteria, such as B. lactis acidi, or B. coli communis; by their high optimum temperature for growth, and the narrow conditions under which they will grow on nutrient media. Metchnikoff in his book „The Prolongation of Life", recommends the use of fermented milk as a common article of diet, and especially that fermented by the organism found in the Bulgarian fermented milk „yogurt". Due to the ideas of Metchnikoff concerning the therapeutic value of milk fermented by this organism there have been widely introduced, fermented milks, sold under various trade names, but all claimed to contain the organism characteristic of Yogurt, B. Bulgaricus. It has been held that the value of the fermented milk was due to its content in this organism rather than to its acid content. Following this idea various firms have put on the market tablets, supposedly containing the organism, which are to be used by people that can not take the fermented milk.

It has been supposed that this organism was characteristic of and confined to the Bulgarian fermented milk. Kuntze(1) has indicated that the acid-forming organisms found in such fermented drinks as the Matzoon of Armenia, the Gioddu of Sardenia, and the Leben of Egypt are similar to B. Bulgaricus. As far as the writers are aware no one has supposed that similar organisms are commonly found in milk.

Maximum Acidity of Milk. The maximum degree of acidity developed in the spontaneous souring of milk is usually stated to range from 1 to 1.25 per cent. This is similar in amount to that produced by pure cultures of acid-forming bacteria of the group represented by B. lactis acidi(2).

There are, however, scattered through the literature statements concerning much higher degrees of acidity which have been noted in milk. Boutroux(3) in studying the acid fermentation of milk found that in a solution containing albuminous matter and glucose 1.5 per cent of acid was formed. Richet(4) found that milk kept at 40° C developed 1.6 per cent of acid, while if gastric juice was added to the milk as much as 4 per cent of acid might be formed in a few days. Whey developed not more than 1.6 per cent. Koning(5) in samples of market milk kept at 37° C for eight days noted an acidity of 2.35 per cent, in another sample kept five days at 37° C 2.51 per cent while samples of the same milk kept at 22° C had developed in the same time but 0.9 per cent. Heinemann(6) in his studies on the significance of streptococci in milk, incubated samples of market milk at 37° C for eight days and found a maximum acidity of 3 per cent. Marshall(7) also noted abnormally high degrees of acidity and has ascribed them to associative action of bacteria. Jensen(8) states that B. Casei ε can produce 2.7 per cent of lactic acid.

---

(1) Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 21. 1908. p. 737.
(2) Lafar, Handbuch der technischen Mykologie. Bd. 11. p. 54.
(3) Compt. Rend. T. 86. p. 605.
(4) Compt. Rend. T. 86. p. 550.
(5) Milchw. Zentralbl. Bd. 1. 1905. p. 289.
(6) Journ. Infect. Diseases. Vol. 3. 1906. p. 173.
(7) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. 1908. p. 57.
(8) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 13. 1904. p. 526.

It will thus be seen that there are organisms able to produce large quantities of acid in milk, and that they apparently are favored by high temperatures (Koning and Heinemann), in these respects agreeing with B. Bulgaricus. von Freudenreich has found B. Casei ε widely distributed in Swiss cheese, whey-rennet and in milk. As far as the writers are aware similar organisms have not been found elsewhere in market milk. The investigators noting the high acidities mentioned, apparently, made no effort, to discover the cause.

In the course of other work milk from various sources was placed in stoppered bottles and incubated at 37° C. The acidity of the samples as determined after several days incubation was so great as to attract attention, and an effort was made to determine the cause.

The following will represent the rate of increase of acidity in a sample of market milk, incubated at 37° C.

Period of Incubation	Acidity, per cent
1 day	1.03
2 days	1.10
3 "	1.22
4 "	1.35
7 "	2.25
150 "	2.60

During the past two years many samples of milk from the University Creamery have been incubated under like conditions, and in every instance the results have been similar to those given.

It is evident from a study of the rate of acid formation that the initial rapid increase in twenty-four hours is due to the ordinary lactic organisms. At about 1 per cent acidity their growth stops and the acidity then increases slowly. It is evident that the second phase of increase in acid must be due to other organisms than B. lactis acidi.

This supposition was confirmed by a microscopical examination of the milk at frequent intervals. At the end of twenty four-hours the predominating form was the lactic organism, (B. lactis acidi). With lengthened periods of incubation long slender cells began to appear, and they increased in numbers with increasing acidity until they were the predominating form in the milk. The cause of the high acidity was thus apparently explained.

The causal Organism.

Isolation: Attempts at the isolation of the organism were at first unsuccessful, as upon the ordinary media the conditions were more favorable for the growth of B. lactis acidi, which still persisted in large numbers in the milk, than for the organism in question.

By making repeated inoculations from milk with a high acidity, and allowing each portion of milk inoculated to develop the maximum degree of acidity before inoculating from it, the ordinary lactic organisms were gradually eliminated, and thus the disturbing factor in the isolation largely removed. Lactose fermenting yeasts frequently prove to be a source of trouble as they find favorable conditions for growth in the acid milk.

Morphology of the organism. The organism causing the high acidity is a bacillus 1 to 3 micra in length and from 0.3 to 0.5 micra in diameter. A tendency to form short chains is frequently noted. In milks which have been incubated for a considerable period, long threads which show no cell divisions are found. The organism is non-motile and non-sporogenous. It stains with aqueous solutions, and is Gram positive. Preparations made from milks having a high degree of acidity and stained with methylene blue show large numbers of irregular stained organisms. Preparations treated with Neissers stain show granules similar to those found in the diphtheria bacillus.

Cultural characters. The growth on nutrient media has no characteristic features. The growth is meager in gelatine, agar and bouillon. even when containing fermentable sugar. The colonies on lactose agar are very small, almost microscopic in size. In lactose- and glucose-agar stab cultures, the medium becomes somewhat opaque due to the action of the acid on the agar. This clouding of the medium is rarely noted with ordinary types of lactic acid-forming bacteria, since the amount of acid produced is much less.

Temperature relations. The optimum temperature for growth has not been determined. Growth has been noted at 50° C. It is probable that the optimum temperature for growth is between 40 and 45° C. Growth takes place at ordinary temperatures. The relative rate of increase of acidity in raw creamery milk at 20° and 37° C is shown in the following table.

Table I. Percent of acid in raw milk at 20° and 37° C.

Days	3	4	6	8	13	23
20° C	1.08	1.13	1.17	1.53	2.34	4.09
37° C	1.67	2.45	2.97	3.15	—	—

It will be noted that the growth at 20° C is slow, but that the amount of acid finally produced is very high, practically all the sugar of the milk being fermented.

Relation to oxygen. Growth occurs either in the presence or absence of free oxygen.

Biochemical characteristics. The organism is able to ferment lactose, dextose, saccharose and mannit, producing acid but no gas from these sugars. The ability to produce large amounts of acid in sugar broths is also pronounced. An acidity calculated as lactic, of 0.6 per cent has been found in lactose broth, and 0.77 per cent in glucose broth. The ordinary lactic bacteria or the colon organisms produce in similar media much smaller amounts, rarely over 0.2 per cent. It has been shown repeatedly that these forms are unable to grow in the presence of free acid, and that the amount of acidity noted in any nutrient medium is dependent on the quantity of substances that will combine with the acid formed. Slight traces of free acid stop the growth. In milk the amount of acid is dependent on the content of casein and ash. The organism studied is not inhibited by free acid. The milk fermented by it gives a strong reaction with congo red.

The maximum degree of acidity noted in milk was slightly over 4 per cent, in whey 2.8 per cent. The rate of acid formation is always slow, never approximating the rapid increase of 0.15 per cent per hour shown by the ordinary lactic bacteria.

With pure cultures milk is curdled in 3 to 4 days at 37° C. The curd is perfectly homogenous and shows no tendency to shrink and to express whey. As the acidity increases the curd loses its firm consistency and is easily broken up into such fine particles that days are required for the curd to settle. The appearance in litmus milk is similar to that produced by B. lactis acidi, the litmus being reduced in the lower layers of the milk.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

A considerable amount of casein is brought into solution through the continued action of the acid. The organism has no proteolytic properties that can be noted by the use of gelatin or milk agar. There is, however, some true digestion of the protein constituents of the milk as is shown by the increase of soluble nitrogen. Flasks of milk were inoculated with a pure culture and incubated at 37° C for 150 days. Determinations of soluble nitrogen were then made by neutralizing the milk so as to precipitate any casein brought into solution by the acid, boiling and filtering. The nitrogen was determined in the filtrate. The control milk contained 0.058 Proz. of soluble nitrogen, the inoculated flask 0.215 Proz. A considerable amount of the protein material of the milk was thus rendered soluble.

von Freudenreich, in his studies on the rôle of acid-forming bacteria in the ripening of Emmenthaler cheese, found that the group of rod shaped organisms that formed high amounts of acid in milk exerted a solvent effect on the nitrogenous constituents of the milk. Numerous attempts have been made in this country and abroad to confirm von Freudenreich's results, but without success, and apparently because the investigators used B. lactis acidi rather than the type of organism employed by von Freudenreich. The results obtained by us thus confirm those of the Swiss bacteriologist.

Resistance to drying. The ability of the organism to resist desiccation was tested by drying on pieces of filter paper which were, at intervals, placed in sterile milk. No positive results were obtained after 19 days. The resistance to drying is thus small as compared with that of B. lactis acidi.

Distribution of the organism. An effort has been made to determine whether the organism is widely distributed and occurrs commonly in milk and other dairy products, or whether it is confined to the supply of the creamery where it was first found, and in the milk supply of which it is constantly present. At a milk exhibit held at an agricultural fair sixteen samples of milk from individual farms were taken. The presence of the organism was determined by acidity tests of the milk. after incubation at 37° C. The farms had no connection with each other through the return of whey and skim milk in the milk cans as do those that send milk to a creamery or cheese factory, and accordngly no opportunity was offered for the organism to pass from one farm to another. The results ot the examinations are given in table II.

Table II. Acid development in milk from separate farms.

Sample No.	Per cent of acid after incubation for		Sample No.	Per cent of acid after incubation for	
	13 days	28 days		13 days	28 days
1	2.6	2.8	9	0.8	1.1
2	1.5	2.1	10	1.4	1.7
3	1.4	1.7	11	1.4	1.8
4	1.2	1.5	12	2.5	2.7
5	2.6	2.5	13	2.2	2.5
6	2.5	2.7	14	2.6	2.6
7	1.4	1.8	15	1.2	2.0
8	3.0	3.0	16	2.6	2.8

Microscopical examinations made of samples Nos 8 and 16 at the end of the incubation period showed numerous bacilli, while sample No. 9 showed only the diplococcus forms characteristic of the ordinary type of lactic organisms.

A number of samples of milk produced on farms where the greatest care is exercised to prevent contamination of the milk were examined in a similar manner. The results are given in table III.

Table III. Acid development in sanitary milk incubated at 37° C.

Sample No.	Per cent of acid after incubation for					
	2 days	4 days	8 days	10 days	14 days	26 days
1	0.99	0.99	1.19	1.37	1.5	
2	0.99	0.99	2.34	2.43	2.45	
3	—	0.2	1.22	—	—	3.3
4	—	0.2	0.27	1.21	2.0	—
5	—	—	2.15			

It will be seen that all of the samples undoubtedly contained the organism. The variations in maximum acidity can not be accounted for. The same variation is also to be noted in table II.

Butter and cheese from widely separated parts of the state were examined for the presence of the organism by inoculating flasks of sterile milk with the butter and cheese. The results are given in tables IV and V.

Table IV. Acid development in milk inoculated with cheese.

Sample No.	Per cent of acid after incubation for		Sample No.	Per cent of acid after incubation for	
	14 days	26 days		14 days	26 days
1	1.5	1.9	5	2.3	2.5
2	1.9	2.3	6	2.5	—
3	2.1	2.3	7	2.0	—
4	2.7	2.8	8	2.5	2.8

Table V. Acid development in milk inoculated with butter.

Sample No.	Per cent of acid after incubation for		Sample No.	Per cent of acid after incubation for	
	14 days	26 days		14 days	26 days
1	1.1	1.5	3	2.5	2.5
2	2.7	2.9	4	2.6	2.5

A sample of milk received from the Cornell University Creamery, Ithaca, New York developed an acidity of 2.8 per cent. A sample of sterile milk inoculated with a drop of raw milk in 1902, when examined in 1909, showed an acidity of 2.25 per cent. It is thus certain that the organism is no recent acquisition and that it is widely distributed in milk.

In Conn 's latest classification of dairy bacteria no such organism is described. It is evident that this class of bacteria, undoubtedly characteristic of milk, has eluded the search of American bacteriologists and to a great extent of European bacteriologists. The reason it has not been isolated from dairy products is that the methods employed are not such as to attract attention to it. Possibly many of the unsolved problems of dairy bacteriology will find their solution through modifications of present cultural technique.

Source. Nothing is definitely known concerning the natural habitat of the organism.

Identity with organisms studied by others.

As was previously mentioned, a large amount of work has been done on the acid-forming bacteria of the Bulgarian fermented milk, Yogurt. Organisms with varying cultural differences have been found by different investigators. As a group they are characterized by their morphology, being bacilli which show granules in the cell when stained with methylene blue or Neisser's stain, and which are Gram positive. They are immotile, non-spore-bearing. They grow very poorly on nutrient gelatin, agar and bouillon. They grow best at temperatures above 40° C. They ferment lactose, saccharose, and glucose, without gas production and are not inhibited by free acid. Almost all the sugar fermented appears as acid, especially lactic acid. In milk the casein is partially digested.

von Freudenreich's description[1]) of the rod-shaped organisms found in the whey-rennet of the Swiss cheese maker and in Emmenthaler cheese indicate that they belong to the same group of bacteria as B. Bulgaricus. B. Casei ε, for example, does not grow on media containing no sugar. Its optimum temperature is 42° C. Milk is curdled very slowly by pure culture. It has a digestive action on casein, and produces large quantities of acid both in milk and in sugar media. Saccharose, glucose and mannit are fermented with acid production, but no gas is formed.

B. Casei ε is immotile, forms no spores and is Gram positive. It will thus be seen that the general characteristics of B. Bulgaricus, of B. Casei ε. and of the organism described in this paper are very similar and the organisms are undoubtedly to be looked upon as belonging to the same group.

B. Casei ε is looked upon by the bacteriologists of the Swiss Experiment Station as one of the important organisms concerned in the ripening of Emmenthaler cheese. Pure cultures of this organism are sent out to the cheese factories of Switzerland, and the results in improving the quality of the product and in overcoming abnormal fermentations have been successful.

The significance of this group of organisms found so widely distributed in milk and other dairy products in this country is unknown. It seems doubtful whether they have any rôle in the ripening of cheddar cheese comparable to that they are supposed to play in Emmenthaler cheese.

On account of their wide distribution in dairy products there is constant opportunity for the digestive tract of man to become seeded with them. We have no evidence that they are to be found in human feces except when large numbers of them are ingested, as in the use of fermented milk. It is evident that the organism is one that does not find favorable conditions for growth in the alimentary tract and thus will not be an important factor in the intestinal flora of man. It would also seem probable that the beneficial effect of milk fermented by them is due to its chemical composition and the physical condition of the casein, rather than to any proliferation of the organisms in the intestine. The opposite view has been held by Belonowsky[2]).

Summary.

Mixed milk when incubated at high temperatures developes a much greater acidity than can be accounted for by the growth of B. lactis acidi.

---

[1]) Landw. Jahrb. f. d. Schweiz. 1904. p. 525.

[2]) Metchnikoff, The prolongation of life.

The causal organism is a bacillus closely related to B. Bulgaricus, the characteristic organism of Yogurt, and to B. casei ε of von Freudenreich. The organism is widely distributed in milk, butter and cheese.

Nachruck verboten.

Zur Methodik von Infektionsversuchen an höheren Pflanzen.

[Aus der Abteilung für Pflanzenkrankheiten des Kaiser-Wilhelm-Instituts, Bromberg.]

Von **Ernst Willy Schmidt.**

Mit 2 Figuren.

Der Infektionsversuch ist in der Phytopathologie das wichtigste Glied in der Kette der Versuche, die den Entwicklungsgang eines Pilzes und die Ätiologie eines spezifischen Krankheitserregers klarlegen sollen. Während nun aber die Kultur parasitärer Pilze auf künstlichen Substraten methodisch mit der Zeit außerordentlich fein durchgebildet worden ist, steht dahinter der Ausbau der Kulturmethoden höherer Pflanzen zu Infektionszwecken weit zurück. Im allgemeinen pflegt man die Wirtspflanze unter feuchte Glocken zu stellen, nachdem ein Blatt oder ein Stengel an einer vorher fixierten Stelle beimpft worden ist. Die Pflanzen müssen die äußerlichenAnzeichen eines gesunden Zustandes zeigen, d. h. sie dürfen keinerlei Anzeichen einer spontanen Infizierung erkennen lassen."[1]) Oder aber man stellt eingetopfte Pflanzen in besondere Kulturkästen[2]) und eigens zu dem Zweck konstruierte Häuser[3]), um die Pflanzen vor nachträglicher Infektion zu schützen. Für viele Fälle reicht diese Methode gewiß aus, insonderheit dann, wenn es sich um äußerst typische Krankheitserscheinungen handelt, die auf keinen Fall zu verkennen sind und einen so schnellen Verlauf nehmen, daß andere Pilze weder hemmend noch modifizierend eingreifen können. Die Schwierigkeiten setzen aber sofort ein, sowie es darauf ankommt, festzustellen, ob ein an einer erkrankten Pflanze gefundener Pilz die betreffende Krankheit auch hervorgerufen hat, oder rein saprophytisch darauf vegetiert; dann, wenn von mehreren vorhandenen Pilzen auf einer kranken Pflanze der spezifische Erreger herausgefunden werden soll, und schließlich, wenn beabsichtigt wird, die infektiöse Energie eines Pilzes zu eruieren, nachzuweisen, ob dieser unter geeigneten Umständen fakultativ parasitär zu werden vermag usw. — Es ist darum die Forderung aufzustellen, daß bei Infektionsversuchen, wenn irgend zu erreichen, sowohl die Wirtspflanze wie auch der Parasit in Reinkultur auf einander zur Einwirkung gelangen.

Nun begegnet die Reinkultur höherer Pflanzen in einigermaßen handlichen Gefäßen besonderen Schwierigkeiten. Abgesehen davon, daß sich eine ganze Anzahl wegen ihrer Größe nur im Keimlingsstadium oder als ganz junge Pflanze verwenden lassen (z. B. Rüben), liegt wohl der Hauptgrund für mancherlei Mißerfolge in der Verwendung von Erde als Substrat für die Pflanze. Boden ist recht schwer steril zu bekommen, und wenn schließlich eine sichere Sterilität erreicht ist, so besteht, besonders in kleineren Gefäßen, die Gefahr des Austrocknens der Bodenmasse. Ich verwendete daher weiterhin immer nur ausgeglühten Sand, dem Knopsche Nährlösung zugesetzt wurde. Man kann allerdings steriles Wasser künstlich zuführen, wie ich weiterhin zeigen werde, ohne wieder eine Möglichkeit mehr geschaffen zu haben, fremde Organismen von außen her einzuführen, doch die sonst geübte Methode der Anbringung von Wasserzuführungsröhren unter aseptischen Kautelen kompliziert den Kulturapparat[1]) unnötig, ohne eine größere Genauigkeit und Sicherheit zu garantieren.

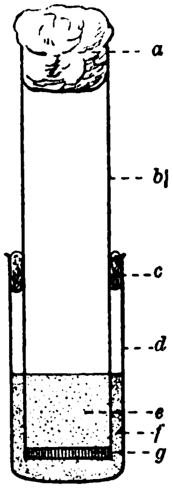
---

[1]) **Küster**, Kultur der Mikroorganismen. 1907. p. 143.

[2]) **Ward**, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 9. p. 161.

[3]) **Tubeuf**, Arb. d. Biolog. Abt. d. Kaiserl. Gesundh.-Amtes. Bd. 2. 1901.

Nach einer ganzen Reihe von Versuchen mit Erde in kleinen Blumentöpfen, Standgläsern, Glaskolben und Reagenzrohren, Versuche, die sämtlich mehr oder weniger unbefriedigende Resultate lieferten, brachte ich schließlich weitlumige, beiderseitig offene Röhren (Gasglühlichtzylinder) in Anwendung, die mit dem einen Ende in Bechergläser gestellt wurden. Die Röhren wurden mit einem Wattering in dem Becherglase festgehalten. In die Röhre sowohl wie in das Becherglas war zuvor gut ausgeglühter Sand gegossen worden, in beliebiger Höhe, je nach den zu verwendenden Pflanzen und der Weite der Röhren. Auf die Sandschicht, die die Röhre außen umgibt im Becherglase, wird soviel Knopsche Nährlösung gegossen, bis in dem Zylinder die ganze Sandsäule mild durchfeuchtet erscheint. Der Zylinder wird oben mit einem Wattebausch verschlossen, und nunmehr das ganze im Dampftopf dreimal je ½ Stunden sterilisiert. Beginnt nun später in der Kultur die Sandschicht bei fortschreitender Vegetation der kultivierten Pflanzen anzutrocknen, so lüftet man nur den äußeren Wattering am Becherglase ein wenig und gießt sterilisierte Knopsche Nährlösung auf die äußere Sandschicht nach. Um nun einerseits eine hierbei immerhin noch nicht ganz ausgeschlossene Infektion der inneren Sandschicht zu vermeiden, andererseits aber das Zugießen steriler Lösung zu umgehen, modifizierte ich das Kulturgefäß dahin, daß ich die untere Öffnung des Zylinders mit einer Celloidinplatte verschloß (vgl. Figur 1); jetzt war ein schnelles und sorgfältiges Eingießen steriler Knopscher Lösung nicht mehr von nöten, da alle Infektionskeime (besonders pilzlicher Natur, auf die es uns hier hauptsächlich ankam) die Celloidinschicht nicht passieren können, während die Knopsche Lösung ohne weiteres diffundiert. Um die Celloidinplatte in dem Zylinder anzubringen, stellt man diesen zweckmäßig mit dem zu verschließenden Ende auf Quecksilber, gießt ca. 3—4 mm hoch Celloidin in das Rohr und läßt das Alkohol-Äthergemisch abdunsten. In bezug auf das spätere Sterilisieren ist zu bemerken, daß das fertig montierte Kulturgefäß mit trockenem Sande (ausgeglüht) in den Dampftopf zu bringen ist, nicht schon mit Knopscher Nährlösung, wie vorher, befeuchtet. Erst nach dem



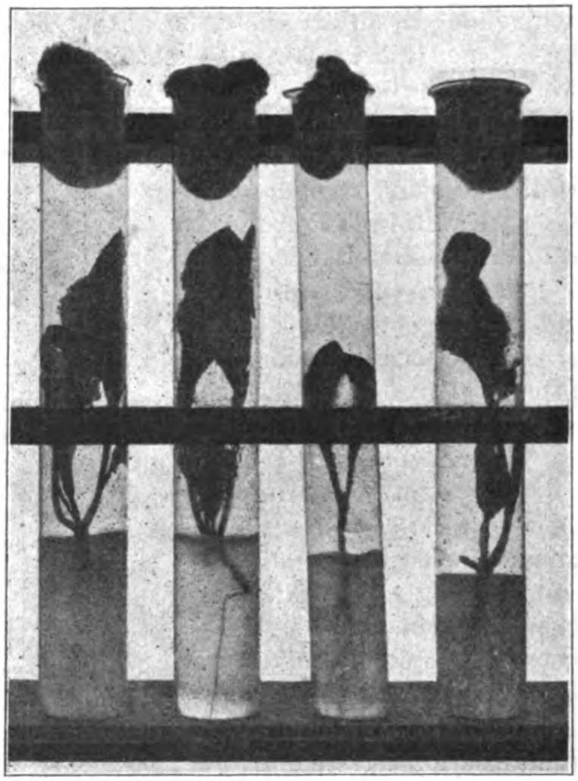
Figur 1.
Schematische Wiedergabe des Kulturgefäßes.

a Wattepfropf.
b Glaszylinder.
c Wattering.
d Becherglas.
e innere Sandschicht.
f äußere Sandschicht.
g Celloidinplatte.

---

[1]) Kürzlich veröffentlichte Petrie eine Arbeit (Nodositätenbildung auf den Rebenwurzeln durch die Reblaus in sterilisiertem Mittel. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1909, p. 146), in der er einen Apparat zur keimfreien Kultur von Rebenkeimlingen in Erde beschreibt. Bei diesem ziemlich komplizierten Apparate ist in der Konstruktion das Hauptaugenmerk auf die Heranzucht eines sterilen Wurzelsystems gelegt.

Sterilisieren wird in derselben Art wie früher, dieses Mal die unsterilisierte Knopsche Nährlösung ohne weitere Vorsichtsmaßregeln in das Becherglas gegossen. — Es gelang auf diese Art speziell Rübenpflänzchen vollkommen steril anzuziehen. Die Versuche mit Rüben lenkten meine Aufmerksamkeit noch auf eine andere Kulturmethode: Die Anzucht von Pflanzen auf Agar in weitlumigen Reagenzrohren. Diese Methode hat sich aus verschiedenen Gründen als eine sehr zweckmäßige und gerade auch für diffizilere Arbeiten geeignete herausgestellt.[1])



Figur 2.

Beta vulgaris in vier verschiedenen Stadien der Bewurzelung; Regeneration der abgeschnittenen Pfahlwurzel in Agar.

Die Vorteile bei der Verwendung von Agar sind folgende: Sauberes Arbeiten, sichere Sterilisierbarkeit, Durchsichtigkeit. Ich benutze im allgemeinen Agar von der üblichen Konsistenz (2 Proz.), der gut gekocht und heiß durch Watte und Filtrierpapier mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe zweimal filtriert wurde. Das Filtrat wurde in weite Glashäfen gegossen und nach dem Erstarren über die ca. 2 cm starke Schicht destilliertes Wasser gegossen und das ganze sich selbst überlassen[2]). Nach einigen Tagen wurde das Wasser, das einen leichten Fäulnisgeruch angenommen hatte, abgegossen und durch frisches Wasser ersetzt usf. Nach etwa 2 Wochen wurde der Agar neu aufgekocht, mit 20 Proz. Knopscher Nährlösung versetzt und in große Reagenzrohre (20 mm innere Weite) gefüllt in 3—4 cm hoher Schicht. Die Röhren wurden fraktioniert dreimal je ½ Stunde im Dampftopfe sterilisiert. Gut gelungene Röhrchen sind so durchsichtig, daß man Druckschrift durch die Agarschicht hindurch bequem lesen kann. Diese Methode verwendete ich zuerst für die Anzucht steriler Rübenpflänzchen, um Wurzelbranderkrankungen mit Phoma künstlich hervorzurufen. Später dehnte ich die Versuche dann weiter aus. Die Rübenkeimlinge erzog ich mir in der ersten Zeit aus Samen, der teils geschält, teils ungeschält benutzt wurde. Auffällig war in den Agarröhren das schlechte Keimen und minimale Wachstum der ungeschälten Knäuel, während die geschälten schon besser wuchsen. Immerhin verlohnte sich diese Art der Anzucht impffähigen Materials wenig; ich be-

---

[1]) Nach Küster (l. c. p. 187) beschrieb Molliard ein Verfahren, höhere Pflanzen auf Agar in Glasröhrchen zu kultivieren. Mir war die Arbeit leider nicht zugänglich.

[2]) Vgl. Beijerinck, M. W., Bot. Ztg. Abt. I. Bd. 48. 1890. p. 725.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

gann daher junge in Erdkästen im Freien herangezogene Rübenpflänzchen gewissermaßen als Stecklinge zu verwenden, indem ich die Wurzeln abschnitt und das hypokotyle Glied mit der Pinzette in die Agarmasse einschob. Die Rübenpflänzchen waren zuvor in stark strömendem Leitungswasser, dann in destilliertem, schließlich in sterilem Wasser abgewaschen worden, die Wurzel wurde mit alkohol-sterilisiertem Messer entfernt und schnell mit steriler Pinzette in das bereit gehaltene Röhrchen eingeführt. Die Pflänzchen trieben in wenigen Tagen kräftige Wurzeln, die bald die ganze Kuppe des Reagenzrohres durchzogen hatten (vgl. Figur 2). Der Blattapparat war üppig grün, Pilze traten selbst nach Wochen nicht auf. Die Gläser standen in großen Reagenzrohrgestellen direkt am Fenster, nachmittags wurden sie voll von der Sonne getroffen. Etwas mehr dunkel gehaltene Kulturen gingen zugrunde, Wurzeln wurden schwach oder gar nicht gebildet. Es muß demnach dem Blattapparat Gelegenheit gegeben werden, lebhaft zu assimilieren, um den Regenerationsprozeß der Wurzeln zu unterstützen. Diese Pflanzen bildeten nun ein vorzügliches Ausgangsmaterial für Infektionsversuche. Die Art der Vornahme der künstlichen Infektion war eine verschiedene. Entweder wurde in der üblichen Weise sporenhaltiges Wasser mit ausgeglühter Platinnadel direkt auf das gesunde Blatt gebracht, oder aber es wurde eine kleine Reinkultur des Pilzes innerhalb des Reagenzrohres angelegt. Und zwar derart, daß an die Röhrenwandung unterhalb des Wattepfropfens ein mit Sporen beschickter halbstarrer Gelatinetropfen geheftet wurde, der durch Schräghalten ca. 3 cm ausgezogen und zum vollständigen Erstarren gebracht wurde. Hier entwickelte sich der Pilz üppig, bildete — z. B. Botrytis cinerea — ein kleines Konidienpolster, von wo aus dann durch schwaches Anklopfen an die Röhre mit dem Finger die Sporen innerhalb der Röhre abfielen und so auf das Blatt gelangend, die Pflanze infizierten. Auch Impfungen direkt auf die Agarschicht gelangen, so mit Phoma betae und Fusarium spec.? Auf dem Agar, der sonst zur Kultur der betreffenden Pilze unbrauchbar war, wuchsen diese jetzt ganz gut; die geringen Mengen organischer Substanz, die durch Diffusion aus absterbenden Würzelchen, abgestoßenen Epidermisteilen usw. in die Agarschicht hineingelangt waren, reichten aus, dem Pilze eine saprophytische Vorernährung angedeihen zu lassen, die sie befähigte, in die intakten Stengel des Rübenpflänzchens einzudringen und diese zum Absterben zu bringen. Diese Anordnung wurde bei einem anderen Versuche insofern modifiziert, als ich eine schon früher beschriebene Methode¹) mit der eben geschilderten kombinierte. Tradescentiastecklinge, genau wie die Rübenpflanzen behandelt, wurden in einem großen Reagenzrohre auf Agar herangezogen. In den Hals des Kolbens ragte ca. 3 cm tief ein dünnes Reagenzrohr umgekehrt hinein, über die Öffnung dieses Röhrchens wurde eine feine Celloidinmembran gespannt, die Kuppe des Reagenzrohres war zuvor entfernt worden. In dieses so vorbereitete Röhrchen kamen einige Kubikzentimeter Pflanzendekoktgelatine, außen auf die Membran wurden in einem Tropfen Wassers Sporen von Botryosporium longibracheatum gebracht. Während die Tradescantiastengel sich bewurzelten, wuchs auch der Pilz heran, dessen Fruchtträger schließlich ca. 1 cm lang mit unzähligen Sporen besetzt in der großen Röhre herabhingen. Eine leise Erschütterung genügte, daß eine feine weiße Wolke von Sporen auf die Tradescantiablätter niederschwebte. — Pilze mit höheren

---

¹) **Schmidt, E. W., Über den Parasitismus der Pilze. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. 19. 1909. p. 129.)**

Fruchtformen, Pykniden, Perithecien, Apothecien können vorteilhaft ebenfalls innerhalb des zur Heranzucht der Wirtspflanze benutzten Kulturgefäßes zur Entwicklung gebracht werden. Die Sporen aus den Fruchtkörpern werden sodann ejakuliert (wie bei den Ascosporen von Pyronema omphalodes, die ich auf diese Weise prüfte, ob sie imstande wären, parasitären Charakter anzunehmen) oder gelangen auf irgend eine andere Art aus dem Fruchtkörper direkt auf die zu infizierende Pflanze. Man hat auf diese Art nur einmal das Reagenzrohr zu öffnen, gleich im Anfang des Ansetzens der ganzen Infektionsversuche, späterhin können die Kulturen ohne weitere äußere Eingriffe ungestört sich entwickeln. Zudem ist das Pilzwachstum mit dem Binokular leicht zu verfolgen, ohne daß der Versuch sistiert zu werden brauchte. Pyronema und Phoma ließ ich ihre Apothecien bezw. Pykniden in einem dünnen Gelatinering entwickeln, der dicht unter dem Watteverschluß angelegt war. Um zu verhindern, daß die Sporen auf die Agaroberfläche fallen und dort auskeimen, was nicht immer erwünscht ist und zur Stengelinfektion führen würde, kann man einige Millimeter sterilisierten Sand auf die Agarschicht schütten und darauf etwas Steatitpulver, wie es Petri[1]) bei seinem Apparate in Anwendung brachte. — Es gelang weiterhin noch Bohnen, Weizen und Senf aus Samen keimfrei auf Agar zu erziehen. Dabei ist zu beachten, daß die Samen etwa zur Hälfte im Agar stecken und nicht einfach auf die Schicht gelegt werden, da dadurch das Eindringen des Keimwürzelchens sehr erschwert wird, die Wurzelspitze gleitet über die elastische Agarmasse hin, ohne einen Spalt oder eine Öffnung zu finden, wo sie ansetzen kann. Das Würzelchen dringt schließlich am Glasrande ein, inzwischen haben sich die Keimblätter jedoch schon entwickelt, bevor die Wurzel ordentlich Fuß gefaßt hatte, und das junge Pflänzchen kann sich nicht mehr aufrichten. Schließlich gelang es noch, Kartoffelaugen auf Agar zum Austreiben zu bringen. Die Kartoffelknolle war zuvor sorgfältig gewässert und mit Sublimat (1 : 1000) gewaschen worden. Mit sterilem Messer wurden die Augen ausgeschnitten und auf die Agarschicht übertragen. — Sicherlich lassen sich auf diese Weise noch manche andere Pflanzen in Reagenzrohren steril anziehen, so daß man jederzeit in der Lage sein dürfte, keimfähiges Material vorausgesetzt, für die verschiedensten Infektionsversuche junge Wirtspflanzen zu erhalten.

Nachdruck verboten.

Neue Infektionsversuche mit Uromyces Dactylidis Otth.

Von Dr. **W. Krieg**, Unterseen (Schweiz).

Uromyces Dactylidis stellt eine Sammelspezies dar, die, wie die bisherigen Kulturversuche von Schroeter, Plowright, Klebahn und mir wahrscheinlich machen, vier biologische Arten umfaßt. Diese unterscheiden sich in der Wahl der Aecidium-Nährpflanze, während die dazugehörigen Uredo-Teleutosporengenerationen sich sämtlich und ausschließlich auf Dactylis glomerata entwickeln. Eine zusammenfassende Darstellung der biologischen Verhältnisse des Urom. Dactylidis, sowie der übrigen bisher bekannt gewordenen Ranunculus-Arten bewohnenden Uromyces findet sich im Centralbl. f. Bakt., Parasitenkunde usw., Abt. II, Bd. 19, p. 697—714 und 771—788[1]). Eine nochmalige Zusammenstellung der bezüglichen Versuchsergebnisse mag zum Verständnis des folgenden angebracht sein.

---

[1]) Petri, l. c. p. 149, „indem der Sand die nasse Erde ..... berührt, feuchtet er sich durch Kapillarität nach und nach an, während die Steatitpulverschicht trocken bleibt, diese läßt jedoch den zur Keimung der Samen notwendigen Sauerstoff durch."

Nach Schroeter entwickelt sich die Aecidiengeneration der von ihm untersuchten biologischen Art des Urom. Dactylidis Otth auf Ranunculus bulbosus, repens, acer und polyanthemus. Plowright vermochte nur Ran. bulbosus zu infizieren. Klebahn stellte die Zusammengehörigkeit eines Aecidium auf Ran. lanuginosus mit Urom. Dactylidis fest. Meine Infektionsversuche ergaben: 1) Auf Ran. silvaticus wächst ein Aecidium, das sich auf Dactylis zu einem Uromyces weiterentwickelt.

2) Mit Teleutosporen auf Dactylis vom Uromyces-Typus erzielte ich Aecidien auf Ran. platanifolius, aconitif., alpestris und glacialis.

3) Teleutosporen eines Urom. Dactylidis erzeugten auf Ran. repens Aecidien.

4) Ein Aecidium auf Ran. bulbosus gehört in den Entwicklungskreis des Urom. Dactylidis.

Aus den mitgeteilten Versuchsergebnissen folgerte ich, daß die von Plowright untersuchte Form mit der unter 4) angeführten identisch sei.

Vergleichen wir damit und mit meinem unter 3) notierten Resultat die Versuche von Schroeter, so ist auffallend, daß es diesem gelang, mit Urom. Dactylidis nebst Ran. acer und polyanthemus sowohl bulbosus als auch repens zu infizieren, und es ergibt sich daraus die Frage, ob nicht die unter 3) und 4) genannten Formen mit denen identisch seien, die von Schroeter und von Plowright zu den oben erwähnten Infektionsversuchen Verwendung fanden. Freilich betont Plowright, daß es ihm niemals gelang, mit Urom. Dactylidis Ran. repens und acer zu infizieren. Trotzdem durfte ich die oben gestellte Frage nach der Identität des von Schroeter, Plowright und mir benutzten Infektionsmaterials nicht von der Hand weisen, da negativen Resultaten nicht absolute Beweiskraft zukommt. Zudem lieferten meine eigenen Infektionsversuche mit Urom. Dactylidis von verschiedenen Standorten einen Hinweis für die Möglichkeit der Übereinstimmung des Urom. Dactylidis, mit dem ich Ran. bulbosus zu infizieren vermochte, mit dem Sporenmaterial, das sich auf Ran. repens fortentwickelte. Die zu diesen Versuchen benutzten Teleutosporen hatten entweder infolge unzweckmäßiger Überwinterung größtenteils ihre Keimfähigkeit eingebüßt, oder es waren einige Versuchspflanzen, darunter gerade Ran. bulbosus, abgestorben. Ich machte daher zu den diesbezüglichen Versuchen nachstehende Bemerkung[2]): „Vergleichen wir die Ergebnisse von Reihe XXVII—XXX mit denjenigen der Reihen XXV und XXVI, so scheint mir der Schluß berechtigt, daß es sich in diesen Versuchen um ein und denselben Pilz handeln kann, nämlich um eine f. sp. des Uromyces Dactylidis, die sowohl auf Ran. repens als auf Ran. bulbosus ihre Aecidien bildet". Weil aber die Identität der Aecidien auf Ran. bulbosus und repens nicht bewiesen, sondern nur wahrscheinlich gemacht war, so führte ich sie in der Tabelle S. 780 als besondere Formen auf, nahm mir aber vor, durch weitere Untersuchungen über diesen Punkt ins klare zu kommen. Im folgenden sollen die inzwischen von mir ausgeführten Infektionsversuche mitgeteilt werden. Sie wurden während des Frühjahrs 1909 teils in Schwarzenburg, teils in Unterseen vorgenommen.

---

[1]) Krieg, W., Experimentelle Untersuchungen über Ranunculus-Arten bewohnende Uromyces. [Inaug.-Dissert.] Jena 1907.

[2]) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. p. 771.

1. Infektionsversuche mit Teleutosporen eines Urom. Dactylidis von Meikirch (Berner Mittelland).

Das Pilzmaterial wurde am 19. Oktober 1908 gesammelt, im Freien in einem Topf überwintert und vor der Versuchseinleitung jeweilen ein bis mehrere Stunden lang aufgeweicht.

Versuchsreihe I.

Infektion am 17. April 1909 in Schwarzenburg. Versuchspflanzen:

1) Ran. bulbosus, 2) repens, 3) acer.

24. April. Die ersten Anzeichen einer gelungenen Infektion im Auftreten einer Anzahl verfärbter Blattstellen auf Ran. bulbosus. Auf I_2 (Ran. repens) Fleckchen auf Blattstielen.

15. Mai. Ein Blatt von Ran. bulbosus mit einer Pyknidengruppe.

Bemerkung: Die Witterung war, ausgenommen die drei ersten Tage nach der Infektion, längere Zeit ununterbrochen kühl. Die Entwicklung der Aecidien konnte ich in Schwarzenburg nicht beobachten, da ich mich später in Unterseen aufhielt.

Versuchsreihe II.

Infektion 19. April 1909 in Schwarzenburg. Versuchspflanzen:

1) Ran. bulbosus, 2) repens, 3) acer.

24. April. Auf II_2 (Ran. repens) zahlreiche helle Höckerchen an Blattspreiten- und Stielen. Ran. bulbosus stark gelitten.

15. Mai. II_2 auf zwei Blattstielen zerstreute Pykniden, außerdem auf mehreren Blattspreiten kleine Pyknidengruppen. Die infizierten Blätter von Ran. bulbosus abgestorben.

Versuchsreihe III.

Infektion 22. April 1909 in Schwarzenburg. Versuchspflanze:

Ran. bulbosus (mehrere Exemplare in einem Topf).

4. Mai. Viele Pykniden.

15. Mai. Auf fünf Blättern, und zwar fast ausschließlich auf den Spreiten, nur selten auf dem Blattstiel, reichlich Pykniden, auch blattunterseits.

2. Infektionsversuche mit Teleutosporen eines Urom. Dactylidis von Wahlern bei Schwarzenburg (Berner Mittelland.)

Versuchsreihe IV.

Am 22. April 1909 infizierte ich in Schwarzenburg mit Pilzmaterial aus Wahlern, das ich am 15. Oktober 1908 geerntet und im Freien in einem leeren Topf überwintert hatte, Ran. bulbosus.

15. Mai. Auf vier Blattspreiten ziemlich viele Pykniden vorhanden. Am gleichen Tage besuchte ich den Fundort des Pilzmaterials und fand auf

den dort zahlreich wachsenden Exemplaren von Ran. repens (Ran. bulbosus fehlt an jener Stelle) viele meist noch unentwickelte, z. T. soeben hervorbrechende Pykniden und vereinzelte noch geschlossene Aecidien.

Versuchsreihe V.

Mit einem Teil des Sporenmaterials infizierte ich am 24. Mai 1909 in Unterseen: 1) Ran. bulbosus, 2) repens.

10. Juni. Ran. repens an zwei Blütenstielen und an einem Blattstiel reichlich unentwickelte Aecidien. Die Blattspreiten hatten von Blattläusen schwer gelitten und waren am Absterben. Die einzige nicht ganz zerstörte junge Spreite zeigte eine winzige Pyknidengruppe. Ran. bulbosus war einige Tage zuvor zugrunde gegangen.

3. Infektionsversuch mit Teleutosporen eines Urom. Dactylidis von Goldswil bei Interlaken (Berner-Oberland).

Versuchsreihe VI.

Mit dem am 2. November 1908 geernteten und im Freien überwinterten Sporenmaterial infizierte ich am 27. April 1909 in Unterseen:

1) Ran. acer und repens, 2) bulbosus, 3) repens.

Anmerkung: Ran. bulbosus wurde am 8. April 1909 eingetopft (Ran. repens und acer dagegen im Herbst 1908) und stammte von einer Lokalität (zwischen Unterseen und dem Neuhaus), wo ich am 9. Mai 1909 auf vielen Ran. bulbosus-Stauden Pykniden und Aecidien feststellte. Am 8. Mai fand ich denn auch auf einem Versuchsexemplar Ran. bulbosus zwei Blätter mit je einer kleinen Aecidiengruppe. Die Blätter wurden weggeschnitten.

17. Mai. VI_1 (Ran. repens) auf einem Blattstiel eine größere Gruppe unentwickelter Aecidien, ferner eine kleine Gruppe am Grunde desselben. VI_3 (Ran. repens) auf zwei Blattspreiten einige kleine Pykniden- und Aecidienhäufchen, in denen die Aecidien erst hervorbrachen. Auf VI_3 hatte ich den Infektionserfolg schon einige Tage früher bemerkt, dagegen damals auf VI_1 übersehen.

21. Mai. Auf VI_1 Infektion gleich stark geblieben; viele Aecidien nun geöffnet. VI_3 an einem Blattstiel zwei geschlossene Aecidien, auf der Spreite eines anderen Blattes vier isolierte Häufchen junger Aecidien, wovon zwei oberseits. Das zweite in diesem Topf stehende Exemplar Ran. repens besaß auf einer Spreite drei kleine Pyknidengruppen. VI_2 (Ran. bulbosus): Alle drei Exemplare befallen, das eine auf zwei Blattspreiten eine Pykniden-, bezw. eine junge Aecidiengruppe, die übrigen beiden Pflanzen je eine winzige Aecidiengruppe, wovon die eine im Heraustreten begriffen.

8. Juni. Auf VI_1 und VI_3 (Ran. repens) die meisten Aecidien vertrocknet; VI_2 auf zweien der bezeichneten Blätter noch alte Aecidien, auf einem dritten alten wolligen Blatt immer noch die Pyknidengruppe, unter der sich keine Aecidien entwickeln.

Der Umstand, daß bei der ungünstigen Witterung Ran. bulbosus wenige Tage nach der künstlichen Infektion alte Aecidien aufwies, spricht zweifellos für eine im Freien stattgefundene Fremdinfektion, da um die gleiche Zeit am Ort, woher diese Versuchspflanze stammte, Ran. bulbosus

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Pykniden und Aecidien trug. Der am 21. Mai festgestellte Infektionserfolg scheint mir aber durchaus einwandfrei zu sein, da vom Eintopfen am 8. April hinweg eine Fremdinfektion ausgeschlossen war und die Inkubationszeit nicht mindestens 43 Tage dauern konnte.

4. Infektionsversuch mit Teleutosporen eines Urom. Dactylidis von Unterseen (Berner-Oberland).

Versuchsreihe VII.

Am 8. Mai 1909 fand ich auf einer Halde am Lombach Ran. bulbosus mit Pykniden und zahlreichen meist offenen Aecidien befallen. Es zeigte sich, daß die mit Ran. bulbosus vergesellschafteten Dactylis-Stauden an vertrockneten letztjährigen Blättern reichlich Teleutosporenlager trugen mit Sporen vom Typus des Urom. Dactylidis. Ich verwendete einen Teil dieses Sporenmaterials zu einem am 24. Mai 1909 eingeleiteten Infektionsversuch, da die mikroskopische Untersuchung festgestellt hatte, daß die Teleutosporen größtenteils noch mit grobkörnigem Inhalt erfüllt waren.

Versuchspflanzen: 1) Ran. repens und acer, 2) bulbosus.

8. Juni. VII$_2$ (Ran. bulbosus) auf zwei Blättern sichere Anzeichen von Pyknidenbildung, von einem Blatt fast die ganze Spreite infiziert; zwei Blätter gesund, die übrigen abgestorben.

10. Juni. VII$_2$ einige unentwickelte Aecidien. VII$_1$ (Ran repens) keine Pykniden, dagegen ein junges Blatt mit zerstreuten geschlossenen Aecidien, ebenso ein anderes Blättchen mit zwei kleinen unentwickelten Aecidienhäufchen.

17. Juni. Die beiden Blätter von Ran. bulbosus, verschiedenen Exemplaren angehörend, auf den Spreiten junge, meist geöffnete Aecidien; namentlich das eine Blatt stark infiziert (es trug drei ausgedehnte Aecidiengruppen). Die übrigen Exemplare Ran. bulbosus dieses Versuchstopfes waren abgestorben, ebenso die vom Pilz nicht befallenen wenigen Blätter der beiden infizierten Pflanzen. VII$_1$ (Ran. repens): Ein Blatt auf vier Lappen je eine Aecidiengruppe mit 1—2 Becherchen, ein zweites junges Blatt eine winzige Pyknidengruppe, ein drittes Blättchen zwei kaum bemerkbare Aecidienhäufchen, ein viertes schien ebenfalls eine Infektionsstelle zu besitzen.

Der Vergleich von VII$_1$ mit VII$_2$ erweckte den Eindruck, als ob der Pilz auf VII$_1$ mit Schwierigkeiten zu kämpfen hätte, denn obschon Ran. repens zahlreiche junge Blätter besaß, war die Infektion recht spärlich und auf die jüngsten Blättchen beschränkt. Wenn wir von einer dem Pilz ungünstigen individuellen Disposition der Nährpflanze und von einer allfälligen Ungleichmäßigkeit bei der Versuchsanstellung absehen — und für beide Möglichkeiten ist die Wahrscheinlichkeit ihres Zutreffens gering, da mehrere Exemplare Ran. repens zum Versuch dienten und die Infektion mit aller Sorgfalt ausgeführt wurde —, so müssen wir annehmen, daß der Parasit sich an Ran. bulbosus gewöhnt und die Fähigkeit der Entwicklung auf Ran. repens teilweise eingebüßt habe. Zu diesem Schluß berechtigt außerdem ein Vergleich meiner Infektionsversuche mit denen von Plowright und Schroeter, worauf ich später bezug nehmen werde.

Es sei noch beigefügt, daß ich auf einem späteren Besuch des Pilzfund-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

ortes neue Uredo und Teleutosporen vom Typus des Urom. Dactylidis nachweisen konnte, ebenso auf Dactylis von der oben erwähnten Lokalität beim Neuhaus (vergl. Bemerkg. zu Reihe VI). An der Fundstelle des Teleutosporenmaterials bei Goldswil, womit Reihe VI infiziert wurde, fanden sich am 28. April 1909 auf dem hier einzig vorhandenen Ran. bulbosus viele Pykniden und Aecidien.

Diskussion der Versuchsergebnisse.

Überblicken wir die Resultate der sieben Versuchsreihen, so zeigt sich: Mit einem Urom. Dactylidis von Meikirch wurde zweimal Ran. bulbosus (Reihen I und III), einmal Ran. repens (R. II) infiziert; Teleutosporenmaterial von Wahlern ergab gleichfalls das eine Mal einen Erfolg auf Ran. bulbosus (R. IV), das andere Mal auf Ran. repens (R. V); Teleutosporen vom gleichen Typus, die von zwei verschiedenen Lokalitäten des Bödeli stammten, entwickelten sich auf Ran. bulbosus und repens (R. VI und VII) weiter. — Daß in Reihe I bis V nicht gleichzeitig Ran. repens und bulbosus befallen wurden, ist teils dem schwachen Infektionserfolg (R. I), teils dem Umstande zuzuschreiben, daß eine der in Betracht fallenden Nährpflanzen im Versuch fehlte (R. III und IV) oder frühzeitig zugrunde ging (R. II und V).

Im Freien fand sich in der Nachbarschaft der Teleutosporengeneration das zugehörige Aecidium meist auf Ran. bulbosus, nur an einer Stelle bei Wahlern auf Ran. repens. Das Aecidium dürfte wohl selten auf den beiden Wirten zugleich angetroffen werden, da Ran. repens und bulbosus ungleiche Standorte bevorzugen, und deshalb an Orten, wo die eine Art massenhaft wächst, die andere meist gänzlich fehlt.

Die beschriebenen Infektionsversuche, sowie die Beobachtungen in der Natur lehren übereinstimmend, daß im Bernischen Mittelland und in tieferen Lagen des Berner-Oberlandes verbreiteter Uromyces Dactylidis die Pykniden und Aecidien sowohl auf Ran. bulbosus wie auf Ran. repens zu bilden vermag, nicht aber auf Ran. acer.

Versuchen wir nach dem derzeitigen Stande der Forschung die morphologische Spezies Urom. Dactylidis Otth. in ihre biologischen Arten zu zerlegen, so ergeben sich mit einiger Sicherheit deren mindestens zwei, nämlich:

1) Urom. Dactylidis f. sp. mit der Aecidiengeneration auf Ran. platanifolius, aconitif., alpestris, glacialis (eigene Versuche).

2) Urom. Dactylidis f. sp. mit der Aecidiengeneration auf Ran. bulbosus, repens (eigene Versuche).

Noch nicht endgültig abgegrenzt erscheinen mir:

3) Urom. Dactylidis f. sp. mit der Aecidiengeneration auf Ran. silvaticus (eigener Versuch).

4) Urom. Dactylidis f. sp. mit der Aecidiengeneration auf Ran. lanuginosus (Klebahn).

Für die 3. Form ist die Spezialisation für die Aecidiennährpflanze nicht geprüft, für die 4. Form ungenügend.

Die beiden von Schroeter und Plowright aufgefundenen biologischen Arten des Urom. Dactylidis sind, wenn vielleicht mit meiner unter 2) aufgeführten Form nicht identisch, ihr sicher nächst verwandt. Wir hätten hier wiederum ein hübsches Beispiel für die unscharfe Abgrenzung der Arten, welche Erscheinung unserem Verständnis einzig dadurch nahe gebracht wird, daß wir derartige gleitende Formen phylogenetisch eine aus der andern entstanden denken. In unserem Fall wäre etwa anzunehmen, daß aus der von Schroeter untersuchten Rasse, die ihre Aecidien auf vier Nährpflanzen entwickelt, durch Abgewöhnung von Ran. acer und polyanthemus eine Rasse entstanden sei, wie sie sich zur Zeit im Berner Mittellande findet, und schließlich aus dieser durch Beschränkung auf einen einzigen Aecidienwirt (Ran. bulbosus) die biologische Art hervorging, die den Versuchen von Plowright zugrunde gelegen hat. Einen Hinweis in dieser Richtung liefert möglicherweise Reihe VII meiner Kulturversuche. Es wäre interessant, wenn die Spezialisierung von Urom. Dactylidis auch anderswo klargestellt würde.

Zum Schluß sei noch auf den Umstand aufmerksam gemacht, daß Ran. bulbosus und repens nicht nur die Aecidienwirte eines Urom. Dactylidis, sondern auch der Puccinia Magnusiana repräsentieren, offenbar ein Zeichen, daß diese beiden Pflanzen dem Parasiten ähnliche Entwicklungsbedingungen bieten. Eine Parallelerscheinung haben wir s. Z. bei Urom. Platanifolii-Dactylidis gefunden, der die Aecidiengeneration auf weißblühenden Ranunculus-Arten zu bilden vermag. Im Kanton Bern scheinen deshalb diese zwei biologischen Spezies des Urom. Dactylidis getrennt vorzukommen, die Form mit dem Aecidium auf Ran. bulbosus und repens im Mittelland, diejenige mit der Aecidiengeneration auf Ran. platanifolius im Jura, entsprechend der Vertreibung dieses ihres Hauptaecidienwirtes.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der schweizerischen Weidenmelampsoren.

Von **O. Schneider-Orelli,** Wädenswil.

Die zahlreichen Melampsoren, welche ihre Teleutosporen auf Salix-Arten bilden, zeigen im Gegensatz zu ihrer in biologischer Hinsicht recht großen Mannigfaltigkeit morphologisch verhältnismäßig geringe Unterschiede, welche fast ausschließlich in der Form der Uredosporen und in der Beschaffenheit der Teleutosporenmembran zum Ausdruck kommen. Die Weidenmelampsoren zerfallen nach ihren morphologischen Merkmalen in die folgenden drei Gruppen:

a) Teleutosporenmembran nicht verdickt; Uredosporen länglich.
b) Teleutosporenmembran nicht verdickt; Uredosporen rund.
c) Teleutosporenmembran am Scheitel stark verdickt; Uredosporen rund.

Innerhalb der einzelnen Gruppen sind die morphologischen Artsunterschiede — da wo solche überhaupt vorhanden — sehr geringfügiger Natur. Um so abwechslungsreicher sind aber ihre biologischen Verhältnisse, deren Kenntnis wir in erster Linie den Arbeiten H. Klebahns[1]) verdanken.

Die morphologische Gruppe a) umfaßt außer der autoezischen Melampsora Amygdalinae noch drei andere Rostpilze, nämlich auf Salix pentandra, alba und fragilis; dieselben bilden ihr

---

[1]) Zusammengefaßt in Klebahn, H., Die wirtswechselnden Rostpilze. Berlin 1904.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Caeoma auf Larix oder Allium. Gruppe b) enthält die Hauptmasse der Weidenmelampsoren, darunter auch die zahlreichen formae speciales, welche nach Ed. Fischer[1]) unter der erweiterten Bezeichnung Melampsora Larici-epitea zusammengefaßt werden; in Gruppe c) ist M. Larici -Capraearum dagegen der einzige Vertreter.

Durch eigene früher publizierte Versuche (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. 2. Bd. 16. 1906. p. 74) wurde gezeigt, daß die Salixmelampsoren der schweizerischen Hochebene, trotzdem sie morphologisch mit denjenigen Norddeutschlands übereinstimmen, sich in biologischer Hinsicht vielfach ganz abweichend verhalten. So gehört, um nur die zwei auffälligsten Beispiele herauszugreifen, das Caeoma auf Evonymus europaeus von schweizerischen Standorten ausschließlich in den Entwicklungsgang einer Melampsora auf Salix incana, während norddeutsches Evonymus-Caeoma Salix aurita, cinerea und caprea infiziert; so lebt die Caeomageneration der Melampsora von Salix purpurea in Norddeutschland auf Ribes, in der Schweiz dagegen ausschließlich auf Larix.

Melampsora Allii-Salicis albae Kleb.

Mit schweizerischem Melampsorenmaterial der morphologischen Gruppe a) wurden bisher noch keine Infektionsversuche ausgeführt.

Herr Dr. Osterwalder hatte die Freundlichkeit, mir mitzuteilen, daß er am obern Teil des Zürichsees zwischen Lachen und Nuolen sehr starkes Auftreten eines Rostpilzes auf Allium ursinum beobachtet hatte. Zur näheren Prüfung begab ich mich Mitte Mai 1909 an die bezeichnete Stelle. Die infizierten Alliumpflanzen befanden sich dicht bei einer großen Hecke, welche zur Hauptsache aus Haselsträuchern und Weiden bestand. Der Befall war ein außerordentlich heftiger, nahezu alle Alliumblätter trugen auf gelblich verfärbten Flecken die charakteristischen Gruppen orangefarbener Caeomalager. Bei näherem Zusehen ließen sich längs der Hecke etwa ein halbes Dutzend Stellen nachweisen, wo die Infektion besonders heftig gewesen, so daß hier selbst an Hunderten von Alliumblättern keine einzige grüne Partie mehr aufzufinden war. Diese Infektionszentren lagen ausnahmslos direkt unter Salix alba-Bäumen; in größerer Entfernung von diesen Weiden war dagegen auch die Caeomainfektion der Alliumpflanzen eine viel geringere. Aus diesen Verhältnissen mußte ohne weiteres auf Melampsora Allii-Salicis albae Kleb. geschlossen werden. Der auf den abgefallenen Weidenblättern überwinterte Pilz hatte die dicht dabei stehenden Alliumpflanzen mit größter Leichtigkeit infizieren können.

Die mikroskopische Untersuchung ergab Übereinstimmung der morphologischen Verhältnisse mit Klebahns Angaben.

Einiges Caeomamaterial diente am 18. Mai zur Aussaat auf eine gesunde Salix alba bei Wädenswil. Es wurden einzelne junge, beblätterte Triebe des stark zurückgeschnittenen Versuchsbaumes mit Sporen bestäubt, andere zur Kontrolle dagegen nicht. Am 28. Mai war noch kein Infektionserfolg bemerkbar; am 3. Juni trugen einige Blätter sowohl unter- wie oberseits schon zahlreiche kleine Uredolager, und am 7. Juni war die Uredobildung auf den bestäubten Blättern eine sehr starke. Auf den Blättern und Trieben der nicht behandelten Kontrollzweige waren zu dieser Zeit noch keine Uredolager aufzufinden.

---

[1]) **Fischer, Ed.,** Die Uredineen der Schweiz. Bern 1904. p. 485.

Die Art und Weise des Auftretens der Uredolager auf den geimpften Blättern schließt eine Versuchsverunreinigung, auch eine solche durch perrennierendes Mycel, vollständig aus.

Das Allium-Caeoma vom oben erwähnten Standorte gehört demnach unzweifelhaft zu Klebahns Melampsora Allii-Salicis albae.

Caeoma Saxifragae.

Caeoma Saxifragae (Strauß) Winter wurde in der Schweiz schon auf verschiedenen Nährpflanzen gefunden, nämlich auf Saxifraga oppositifolia, aizoides, varians, Seguieri und exarata[1]). Für das Caeoma auf Saxifraga oppositifolia hat Jacky [2]) die Zugehörigkeit zu einer Melampsora auf Salix herbacea nachgewiesen. Caeomasporen auf Sax. oppositifolia vom Corbassièregletscher im Wallis herstammend, infizierten nämlich Salix herbacea, nicht aber Salix serpyllifolia, reticulata retusa und arbuscula. Dagegen führte die Rückinfektion des Pilzes von Salix herbacea auf Saxifraga zu keiner Caeomabildung; doch ist dieses negative Resultat nicht unverständlich, da alle Beobachtungen darauf hinweisen, daß der Pilz in den Saxifragapflanzen perenniert und wahrscheinlich nicht sofort, sondern erst im folgenden Jahre zur Caeomabildung schreitet.

Über die Zugehörigkeit des Caeomas der andern Saxifraga-Arten geben noch keine Impfversuche Aufschluß; immerhin erwähnt Ed. Fischer in seinen „Uredineen der Schweiz" in einer kurzen Notiz (p. 492) die Beobachtung, daß er auf der Oberhornalp im Lauterbrunnental uredobesetzte Salix reticulata dicht neben caeomabesetzten Saxifraga aizoides fand. Infektionsversuche, die ich (l. c. p. 85) später mit Pilzmaterial auf Salix reticulata von diesem Standort ausführte, ergaben aber nur das Vorhandensein von Melampsora Larici-Reticulatae, während Saxifraga aizoides keinen Impferfolg aufwies. Da die Versuchspflanzen aber im folgenden Jahre nicht mehr kontrolliert wurden, so ließ dieser Versuch immerhin die Möglichkeit offen, daß Salix reticulata auf der Oberhornalp gleichzeitig von zwei Melampsora-Arten befallen wird, wovon die eine ihr Caeoma auf Larix, die andere auf Saxifraga aizoides bildet.

Diesjährige Beobachtungen bestätigten nun das Vorhandensein einer zwischen Saxifraga aizoides und Salix reticulata wirtswechselnden Melampsora-Art. Der Westabhang des Val de Moiry (eines Seitentales des Val d'Anniviers im Wallis) ist reichlich mit alpinen Weiden, besonders Salix reticulata, retusa und herbacea, sowie mit Saxifraga aizoides bewachsen. Am 18. Juli 1909 waren die Weiden noch größtenteils pilzfrei; einzig auf Salix reticulata fanden sich hier und da Uredolager. Vereinzelte Lärchen, welche als Zwischenwirte in Betracht kommen konnten, fand ich erst einige Kilometer weiter unten im Tal.

An einer Stelle, etwa 100 m oberhalb der Alp von Zatelet Praz war Salix reticulata besonders stark infiziert, und es zeigte sich bei näherem Zusehen, daß dicht neben diesen stark befallenen Weiden sich caeomatragende

---

[1]) Fischer, Ed., l. c. p. 537.

[2]) Jacky, E., Untersuchungen über einige schweizerische Rostpilze. (Ber. d. schweiz. bot. Gesellsch. Heft 9. 1899. p. 49.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Saxifraga aizoides befanden. In einer Entfernung von einigen cm von den Caeomanährpflanzen war kein einziges reticulata-Blatt pilzfrei; die meisten trugen bis ein Dutzend und mehr Uredolager. Mit steigender Entfernung nahm die Zahl der Pilzlager auf den Blättern aber rasch ab, so daß schon in einer Distanz von einem Meter nur noch vereinzelte Uredolager nachgewiesen werden konnten. Etwa 50 Schritte weiter fand ich noch einmal eine Gruppe caeomatragender Saxifraga aizoides und es bot sich hier genau das gleiche Bild der Infektion von Salix reticulata wie am ersten Ort. Die vielen in der Nähe wachsenden Salix retusa und herbacea waren auch hier ausnahmslos pilzfrei.

Diese Beobachtung beweist meines Erachtens die Zusammengehörigkeit einer Melampsora auf Salix reticulata mit dem Caeoma auf Saxifraga aizoides im Val de Moiry. Der Pilz, dessen Benennung besser erst nach der experimentellen Untersuchung erfolgt, unterscheidet sich auch in morphologischer Beziehung von den bekannten. Die Caeomageneration zeigt zwar große Übereinstimmung mit Melampsora alpina[1]), dagegen unterscheiden sich die Uredosporen durch ihre Form und Größe deutlich von den andern Weidenmelampsoren. Die Beschreibung des Pilzes lautet folgendermaßen:

Pykniden orangerot, auf der Blattoberseite zu mehreren nebeneinanderliegend. Caeomalager auf der Blattober- und unterseite, orangerot. Die befallenen Nährpflanzen unterscheiden sich durch gelbliche Verfärbung und kleinere Blätter von den gesunden. Caeomasporen kugelig oder etwas länglich; erstere messen 19—22 μ, letztere werden bis 25,5 μ lang. Membran 3—4 μ dick, äußerst feinwarzig; Warzenabstand kleiner als 1 μ.

Uredolager rundlich, ½—1 mm Durchmesser, häufig mehrere zusammenfließend; ausschließlich auf der Blattunterseite. Uredosporen meist länglich, auch rundlich oder polyëdrisch, überhaupt sehr variabel (in ein und demselben Uredolager); Länge: 24—32, selten bis 35 μ[2]), Breite 16—22,5 μ. Membran 2—3 μ dick, ringsum stachelig; Entfernung der Stacheln 1,6 μ. Paraphysen mit etwas länglichem, seltener mit rundem Kopf, Größe desselben 29—41 μ: 24—31 μ.

Teleutosporenlager noch nicht beobachtet.

Ein anderes Saxifraga-Caeoma sammelte ich am 20. Juni 1909 am Schild bei Glarus auf Saxifraga varians. Die Caeomasporen boten hier ein etwas anderes Bild, indem ihre Membran nur ½—1½ μ dick war. Infektionsversuche, die ich mit diesem Pilzmaterial ausführte, ergaben auf Salix reticulata, retusa und herbacea keinen positiven Erfolg. Caeoma Saxifragae besteht nach dem Gesagten also aus verschiedenen, von einander unabhängigen Rostpilzarten.

---

[1]) Jacky, l. c. p. 57.

[2]) Die Uredosporen der Melampsora alpina auf Salix herbacea werden nicht über 20 μ lang.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Nachdruck verboten.

Potato „Wart“ disease: the life history and cytology of Synchytrium endobioticum (Schilb.) Percl.

By Professor **John Percival**, Reading (England).

With 3 plates.

In 1896 Schilberszky (11) reported the occurrence of a new tuber disease of the potato specimens of which had been sent to him from Upper Hungary. In a preliminary communication he described its chief characters and gave a brief account of the parasite which causes it; the latter he named Chrysophlyctis endobiotica referring it to the Chytridiaceae.

There is little doubt that the disease was the same as that now spoken of as „black scab“. As I have already pointed out else-where this name gives a wrong impression of the nature of the disorder: it should therefore be discarded and the name potato „wart“ which more clearly describes the general characters of the disease substituted in its place.

In the Autumn of 1900 potato „wart“ was noted in England and tubers exhibiting the disease were forwarded to me in that year for examination from Burton-on-Trent. Owing to other engagements at that time I was prevented from doing more than observing the presence of the resting sporangium or sporocyst in the diseased tissue. The pest has now spread through several of the midland counties of England and has been reported from Wales, Scotland and Ireland. Where it has appeared it has become one of the most serious troubles of the potato grower and it threatens to destroy the industry unless measures are taken to check its progress. With commendable promptitude the Board of Agriculture has scheduled the malady as a notifiable disease under the Destructive Insects and Pests Act and it is hoped that farmers will assist the Board to stamp it out.

Through the courtesy of the Board of Agriculture and Fisheries I was provided with fresh material in the autumn of 1908 and during the present year I have been able to carry out an exhaustive series of experiments with the parasite. The dry „warty“ out growths such as depicted on the potato in Figs. 1, 2 and 3 were broken up and distributed in a mixture of soil and which peat was placed in pots and glass vessels in a cool greenhouse. In the spring of the year sprouting potato tubers were imbedded in these pots. After a few weeks growth the new rhizomes and potatoes were examined and found to be infected with the parasite and producing abundance of „warty“ tissue. Small portions of the diseased growths were removed from time to time: their growth and the development of the parasite were investigated throughout the growing season.

An examination of a section of the warty growth in summer or autumn reveals the presence of a number of brown sporangia or sporocysts (so-called „spores“) imbedded in the cells near the surface of the tissue. (Fig. 4.) These are chiefly „resting“ sporangia which do not germinate until Spring. They are approximately spherical bodies averaging about 52 μ diameter with brittle, chitinous walls which in fully developed specimens measure about 1.8—2.2 μ in thickness. The outside of the wall has irregular bands or ridges upon it some of which are portions of the cell wall of the host cell in which the sporangium has developed. (Fig. 5.) Comparatively few full

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

grown sporangia are found in the outermost cell layer or epidermis of the warty outgrowth: most of them occur below the surface down to the sixth or eighth cell. Inside the thick brown wall of the sporangium is a thin elastic transparent lining or sac within which are several hundreds of zoospores (Fig. 6.) and usually large numbers of oil globules of varying sizes (Fig. 7.). Each zoospore is round, from 2—2.2 μ in diameter and without any very definite cell wall: Within its cytoplasm are seen several extremely small refringent bodies probably protein crystals, but their exact nature I have not been able to determine. (Fig. 6 a.)

Germination of the „resting“ sporangium. In March and April 1909, isolated sporangia obtained from the material saved from the previous autumn were suspended in hanging drops of pure water, potato juice, solutions of sugar, lactic acid, and other substances. In no case was I fortunate enough to see the splitting of the sporangial wall and the escape of the swarmers. The empty ruptured cases however were frequently found in drops which had been left 6 to 10 days and in some instances the inner sacs with their contents were observed free from the outer thick walls having apparently come out through gaping slits in the latter. I found numerous actively motile swarmers especially in the acid solutions and was able to obtain them by mounting unopened ripe sporangia which had been kept in water for a few days, and rupturing these by gentle pressure with a needle on the cover-slip. The swarmers when freely swimming in water are oval or pear-shaped zoospores each with a single cilium which it moves at first with a peculiar jerky motion. Usually after the swarmer has been swimming 15 or 20 minutes the cilium becomes less active and is swished more slowly backwards and forwards its motion resembling that of a sluggish eel. Soon the motile organ disappears and the zoospore becomes amoeboid in which state it is transparent and very difficult to follow in water on the slide. Fig. 8.) In one or two cases the swarmers squeezed from thick-walled sporangia in the manner indicated had many minute oil-drops or other particles attached to them but eventually they struggled and became free from these (Fig. 9.)

Sori of sporangia. Round thick-walled sporangia similar in general structure to those which remain dormant during the winter are produced all through the summer but in greatest abundance in the latter part. Some of them undoubtedly germinate during the same season in which they arise for I have obtained motile swarmers from them in July and August. The parasite however produces another type of sporangium chiefly during May and June. These are thin transparent sacs either produced singly or 2 to 5 together forming a sorus of sporangia enclosed within a brown coat which consists largely of the brown altered cell-walls of the host in which the parasite has become encysted (Fig. 10.). Inside each sporangium are hundreds of swarmers somewhat smaller in size than those found in the thick-walled sporocysts previously described but otherwise similar (Fig. 27, 35). When removed from the warty tissue and placed in a hanging drop germination takes place in 3 or 4 hours. Altough these sporangia contain little or no free separate oil-drops and in this respect differ from the thick-walled forms the swarmers usually have a large oil drop within them (Fig. 11.).

Infection and effect upon the host. The swarmers apparently in the amoeboid state enter the potato through the delicate tissue of the buds on the thin rhizomes and in the „eyes“ of the young tubers. I

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

have not found the roots of the plants attacked although Johnson states that this occurs. All attempts to inoculate tubers through the skin of the tuber at points away from the eyes failed but I found that a drop of water containing crushed sporangia when placed on the eye of a tuber even as late in the season as August produced a small characteristic wart in three or four days and sections of the proliferated growth showed the presence of the parasite in its surface cells. After infection there is an extraordinarily rapid growth of the invaded tissue. The branch and leaf primordia of the eye grow out irregularly and the new tissue superficially resembles pieces of the young fasciated inflorescence of a cauliflower. The new warty growth may be looked upon as a malformed branch system stimulated by the parasite to grow irregularly and before its natural time. When formed on parts near the surface of the soil where light can get at it the growth becomes green and portions sometimes resemble fleshy leaves. The ‚tumours‘ vary in size: some of them are like a small wrinkled peas, others as large as a hen's egg, and greater than the tubers on which they are found. They may grow out from all the eyes on the tuber or from only one or two: they also occur upon the thin rhizomes of the plant (Fig. 1, 2, 3.). A certain account of vascular tissue is present in the warty growth but the bulk of the latter consists of thin-walled parenchyma. No cork is formed on the exterior of the parts invaded by the parasite the epidermis remaining uncutinised. The whole tissue of the wart when kept for a short time turns black and dies, its soft, succulent tissues being easily broken down by fungi, bacteria and other saprophytic agents and the imbedded sporangia set free.

As a rule only one swarmer enters each cell of the host, but occasionally two or more may penetrate into a single cell (Fig. 12). After entry they penetrate the protoplasm of the latter and rapidly increase in size. The host-cell is stimulated into a corresponding growth: its nucleus and the nucleolus within it become abnormally large. For a time the cytoplasm increases considerably also but is ultimately disorganised its remains with the dead nucleus being found as a brown irregular mass on the outside of the thick wall within which the parasite has encased itself. Sections through a young ‚wart‘ often exhibit the invading organism in all stages of development (Fig. 14.). The outermost youngest cells are generally free from the parasites; those just beneath the surface contain them in the early state of growth while in the parts a few cells deeper, fully developed sporangia are seen. The organisms stimulate the invaded cell and at the same time appear to stimulate division and growth in the adjoining cells. As the new tissue is pushed out from the irritated eye of the tuber fresh infection occurs and this is repeated and continues throughout the summer months.

Cytology and development of the parasite. From March until September 1909 I was enabled to carry on continuous observations and investigations regarding the development and cytology of the parasite in the material obtained by inoculation of potatoes grown in pots in the green house. During these months a very large number of pieces of infected tissue were fixed in Flemming's solution and from these over 3000 microome sections were cut.

A number of different stains were used in the work. For the study of the nuclear changesand the distribution of the chromatin Haidenhain's Iron haematoxylin, Delafield's haematoxylin and Flemming's triple stain were tried. Haematoxylin is by no means a satisfactory stain for the parasite in certain stages of its growth. On the whole Flemming's triple stain gave uniformly good results and Borax carmine and methyl green were found useful. For some purposes Gentianviolet (Gram's method) and Hermann's Safranin and Gentianviolet were very valuable.

The cytoplasm of the organism during its early growth in the host-cell and at the time when the swarmers are forming contains in its meshes oil or some material which stains black with Flemming's fixing solution (Figs. 16, 17.), but this discolouration can be removed without interference with the subsequent staining operations by means of alcoholic hydrogen-peroxide.

Development of the thick-walled Sporangium or Sporocyst. The parasite after entry into the host-cell imbeds itself in the cytoplasm of the latter and in the earliest-stages is difficult to observe. Its nucleus and nucleolus are however, at first smaller than those of the potato cell. It grows very rapidly and soon is visible as a round thin-walled cell with a large centrally placed nucleus (Fig. 12.). The cytoplasm of the young parasite shows an indistinct reticulum in which are found characteristic denser portions of irregular form arranged more or less concentrically with the nuclear cavity (Figs. 14, 15.). Its nucleus is at first small and without any definite membrane but as the parasite grows the nucleus increases at a rapid rate until it reaches a diameter of 16—18 μ when a distinct nuclear membrane is visible. A thin wall is soon secreted round the parasite and on the outside of it are seen the deformed nucleus of the host cell in the shape of crescent, usually together with a certain amount of the cytoplasm of the host cell also (Fig. 13.). Within the nuclear cavity its a well marked spherical nucleolus inside or around the surface of which the chromatin is concentrated. In the youngest organisms this karyosome or chromatin-nucleolus is very minute much smaller than the nucleolus of the host cell (Fig. 12) but it soon grows and eventually reaches an average diameter of 6.6 μ. Attached to or closely associated with the nucleolus there is a peculiar and characteristic body of irregular form, its free edge exhibiting fine amoeboid extensions which usually extend but a short distance into the nuclear cavity (Figs. 18, 20.), although occasionally some of them are seen to be connected with the nuclear membrane (Fig. 22.). This lateral body in its early history does not stain at all or only slightly with chromatin stains, but at the time or just after the organism has reached its maximum vegetative growth its staining power gradually increases correspondingly. It appears as if the chromatin is transferred from the nucleolus to the accompanying body in more or less rounded granules or globules. About this period of development the chromatin is found distributed on the nuclear membrane and in the meshes of the cytoplasmic reticulum (Fig. 18). The reticulum then gradually breaks up into round swarm spores (Fig. 18, 19, 20). While the development of the latter is proceeding the diameter of the nucleus shrinks very much until it measures about 6.5—8 μ in diameter in the fully developed sporangium. The nucleolus shrinks to less than 2 μ in diameter and the nuclear membrane instead of remaining circular in outline becomes bulged inwards, and finally dissolves and disappears. The remains of the nucleolus and accompanying amoeboid body with a certain amount of chromatin in or upon them are found as a residue in the centre of the sporangium among the swarmers (Fig. 21). The sporangial wall gradually thickens as zoospore production proceeds and finally measures about 2 μ in thickness.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

In the primary nucleus of some of the cells which develope into thick walled sporangia the body associated with the nucleolus is a large half-moon shaped structure at first somewhat granular but later more homogeneous: it is often seen fitted round the nucleolus like a cup round a ball. Nuclei of these cells are somewhat larger than those of ordinary thick-walled sporangia and contain a small number of delicate linin threads. With increasing age of the nucleus the nucleolus becomes vacuolated and the chromatin which it possesses leaves it and is apparently transferred to the associated body either into its substance or distributed over its surface in the form of fine granules (Fig. 22—24) and at the same time chromatin particles begin to appear in the surrounding cytoplasm (Figs. 25, 26). In a recent paper von Guttenberg describes and figures a ‚Kerngerüst‘ which lies close to one side of the nucleolus of certain species of Synchytrium which he examined. This structure is quite similar in form and cytological character with that present in the nuclei of the ‚wart-producing‘ organism of the potato.

In the nuclei of the cells which develope into these round or slightly elliptical thick-walled sporangia I have not found any trace of mitosis. The zoospores which are found in such sporangia are often not all of the same size. (? gametic anisospores.) Possibly conjugation may take place among them but I have not been able to discover any union among the swarmers either in the sporangia or after their escape from the latter.

Development of the sori of thin-walled sporangia. As previously indicated, the organism, during the summer produces a small number of sporangia in sori. These contain swarmers all equal in size and about 1.5 μ in diameter: they are smaller than those in the thick-walled sporocyst (isospores): in their formation mitotic division occurs. These sporangia have thin walls, and are enclosed in a brown covering of irregular shape chiefly formed from the surrounding cell walls of the host (Figs. 10, 27). The cytoplasm of the cell which developes into this type of sporangium is much more dense than that of the cell which grows into the thick-walled sporocyst. Its primary nucleus is large, measuring on an average 22 or 23 μ in diameter when the organism has completed its vegetative growth and is frequently placed excentrically in the cytoplasm. A well-marked nuclear membrane is present and upon its inner surface spherical granules of chromatin are arranged more or less regularly. In the nuclear cavity are a round nucleolus 6—8 μ in diameter, a variable number of minute chromatin granules often scattered irregularly within it, and a small number of linin threads (Figs. 28 to 30). The peculiar crescent-shaped body associated with the nucleolus of cells which develope into thick-walled sporocysts is absent. With the beginning of the reproductive stage the chromatin of the nucleus often becomes associated with the linin threads. The nucleolus becomes vacuolated and loses its staining power (Fig. 29), at the same time the nucleus shrinks and soon disappears entirely the chromatin contained within it being found in the form of very distinct „chromidia“ scattered through the cytoplasm of the parasite, (Fig. 31); round the chromidia small vacuoles appear and nuclei arise at these points.

The whole organism may give rise to a single sporangium but very frequently, after the disappearance of the primary nucleus, the protoplasm suffers progressive cleavage from outside inwards into 2 to 5 portions, not always equal in size, each of which soon surrounds itself with a thin membrane and becomes a separate sporangium the whole being enclosed in a thicker brown covering (Figs. 10, 31, 35). These sori are identical in form and structure with those of many species of Synchytrium.

In many sections I found small secondary resting nuclei with their chromatin granules and linin recticulum distributed throughout the cytoplasm of the parasite: in some cases such nuclei measured from 6—10 μ in diameter, in others they were only about 4 μ across having undergone further division (Fig. 32). With each successive division the size of the nuclei decreases rapidly until at last it becomes extremely small (Fig. 27).

No primary nucleus was found to undergo recognisable mitotic division, but undoubted mitosis occurs in the minute secondary nuclei (Figs. 34, 35). In this respect my observations upon this organism agree with those of Dangeard (2) and Rosen (4) who noted the gradual evolution of typical mitosis in the latre divisions of the nuclei of Synchytrium taraxaci.

The parasite causing the warty disease of the potato agress in practically all respects with representatives of the old genus Synchytrium. I therefore propose that the generic name Chrysophlyctis should be abandoned and the organism be known as Synchytrium endobioticum. The from of its swarm spores, its growth within the invaded tissues of the host, the production of sori of sporangia and the germination of the latter, all place it in this genus. Moreover, the cytology of the parasite supports the proposal. My observations upon the structure and division of the primary nucleus and the formation of the secondary nuclei are in close agreement with the researches of Dangeard (2), Rosen (9) and Harper (13) upon Synchytrium taraxaci and those of Rytz (10), Griggs (3), Kusano (6) and von Guttenberg (4) upon other species of the same genus.

The very considerable amount of research already carried out upon the Synchytria should enable us soon to deal with the question of their relationship and possibly that also of the majority of organisms included in the Chytridiaceae. In the simple character of their nuclei and in the structure of the sporangium or sporocyst and the mode of zoospore formàtion they seem to indicate very near affinity to certain groups of the Protozoa: I have little doubt that ultimately they will find a resting place among the latter.

In conclusion I have pleasure in expressing my indebtedness to Miss Heather Mason for valuable cooperation in the work: without her assistence I should not have been able to obtain such a complete series of sections of the various stages in the development of the parasite.

Literature.

1) Carruthers, Report of consulting Botanist. (Journ. Royal Agric. Soc. 1902. p. 229.)
2) Dangeard, Recherches histologiques sur les champignons. (Le Botaniste. 1890. 91. p. 63.)
3) Griggs, Some aspects of amitosis in Synchytrium. (Bot. Gaz. 1909.)
4) von Guttenberg, Cytologische Studien an Synchytrium-Gallen. (Pringsheim's Jahrb. 1909. p. 453.)
5) Johnson, Chrysophlyctis endobiotica Schilb. (Sci. Proc. of Royal Dublin Soc. 1909. p. 131.)
6) Kusano, A contribution to the cytology of Synchytrium. (Bull. of Coll. Agric. Tokyo. 1909. p. 80.)
7) Mac Dougall, New fungus disease of potatoes. (Trans. Highland Agric. Soc. Scotland. 1903. p. 312.)
8) Potter, A new potato disease. (Journ. Bd. of Agric. 1902.)
9) Rosen, Studien über die Kerne und Membranbildung bei Myxomyceten und Pilzen. (Cohns Beiträge. Bd. 6. 1893. p. 237.)

10) Rytz, Beiträge zur Kenntnis der Gattung Synchytrium. (Centralbl. f. Bakter. Bbt. II. Bd. 18. p. 635, 799.)
11) Schilberszky, Ein neuer Schorfparasit der Kartoffelknollen. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1896. p. 36.)
12) Stevens, Mitosis of primary nucleus in Synchytrium decipiens. (Bot. Gaz. 1903. p. 405.)
13) Harper, Cell division in sporangia and asci. (Ann. of Bot. 1899. p. 467.)

Explanation of the figures.

With the exception of the first three figures which are from photographs all the drawings were made with the camera lucida the magnifications in each case being indicated below.

Plate I.

Fig. 1. General appearance of underground parts of potato attacked by Synchytrium endobioticum. $^1/_5$ natural size.

Fig. 2. Tuber showing „warty“ growth: ½ natural size.

Fig. 3. Infected tubers cut through longtitudinally.

Fig. 4. Section through pieces of wart showing imbedded sporangia or sporocysts. 1 : 90.

Fig. 5. Isolated thickwalled sporocyst. 1 : 420.

Fig. 6. Section through thick-walled sporocyst: in the interior are seen the zoospores and the nuclear residue. 1 : 420.

Fig. 7. Portion of contents squeezed from fresh sporocyst. a) oil or fat globules: b) zoospores). 1 : 1375.

Fig. 8. Motile zoospores with cilia and later amoeboid forms. 1 : 1375.

Fig. 9. Zoospore squeezed from thick-walled sporocyst. (August 10 th). 1 : 1375.

Fig. 10. Sori of sporangia. 1 : 160.

Fig. 11. Sporangium with lateral opening through which zoospores are emerging. 1 : 400. a) isolated zoospores. 1 : 1400.

Fig. 12. Two infected host-cells. 1 : 925. a) one parasite imbedded in cytoplasm of host-cell: (note large nucleolus of host-cell). b) host-cell invaded by three parasites: (? three successive infections). (Triple stain).

Fig. 13. Host-cell with parasite: the organism now has a thin surrounding membrane, the deformed nucleus of the potato-cell lying close to it. 1 : 925. (Triple stain).

Fig. 14. Section through piece of „wart“ showing parasites in various stages of development. 1 : 325. (Triple stain).

Fig. 15. Young parasite. 1 : 925. (Triple stain).

Plate II.

Fig. 16. Unbleached section through piece of „wart“ fixed in Flemming's solution. 1 : 160.

Fig. 17. Young Parasite fixed in Flemming's solution (unbleached). 1 : 325.

Fig. 18. Young Parasite: sporocyst, wall already formed. 1 : 420.

a) nucleus of same and portion of cytoplasm with chromatin in reticulum. 1 : 1000. (Triple stain.)

Fig. 19. Later stage of cytoplasmic reticulum. 1 : 1000. (Triple stain.)

Fig. 20. Still later stage: Zoospores formed. 1 : 1000. (Triple stain.)

Fig. 21. Successive stages of nuclei of thick-walled sporocyst with portion of surrounding cytoplasm. Zoospores completely formed in d and e. Note oss of staining power of nucleolus and remaining nuclear residue in e, with chromatin in „amoeboid-body“. 1 : 950. (Triple stain.)

Fig. 22. Nucleus showing nucleolus and amoeboid body: the latter connected by thin strand with nuclear membrane. 1 : 1000.

Fig. 23. Young parasite. 1 : 420. a) nucleus with vacuolated nucleolus and accompanying body over which chromatin particles are scattered. 1 : 925. (Haidenhain's Haematoxylin.)

Fig. 24. a), b) and c). Similar nuclei to that in Fig. 23. 1:925. (Haidenhain's Haematoxylin.)

Fig. 25 & 26. Parasites showing „chromidia“ in the cytoplasm. 1 : 420. (Haidenhains Haematoxylin.)

Fig. 27. Sporangium containing the smaller zoospores (isospores). 1 : 420. a) isolated zoospores. 1 : 1375.

Fig. 28. Encysted parasite showing large nucleus containing nucleolus and linin threads. 1 : 420. a) nucleus of same. 1 : 925. (Gram's gentian violet.)

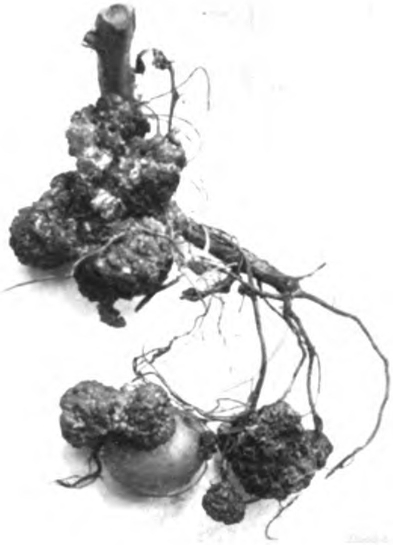


Fig. 1.

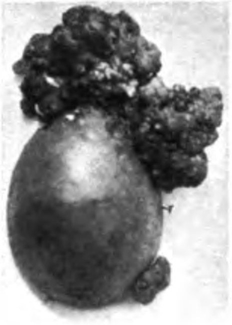


Fig. 2.

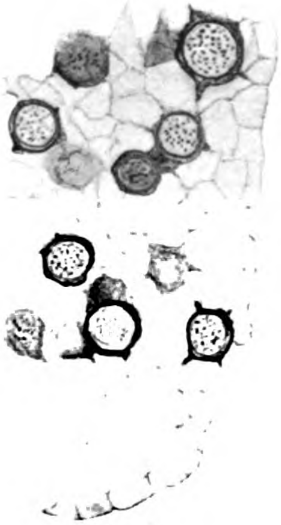


Fig. 4.

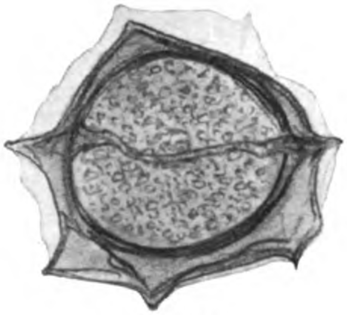


Fig. 5.

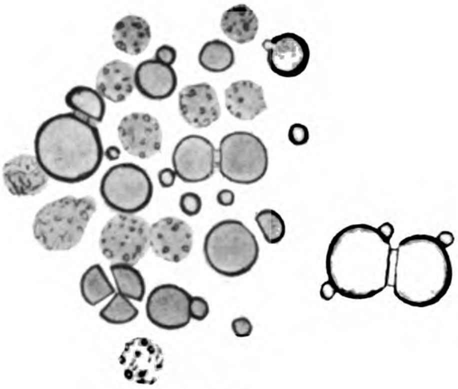


Fig. 7.

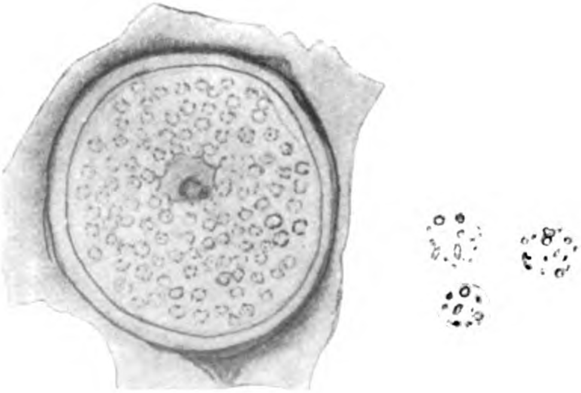


Fig. 6.

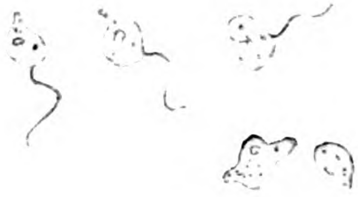
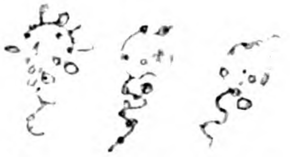


Fig. 8.



2.55 p.m. 3.10 p.m. 3.14 p.m.

Fig. 9.

Verlag von Gustav

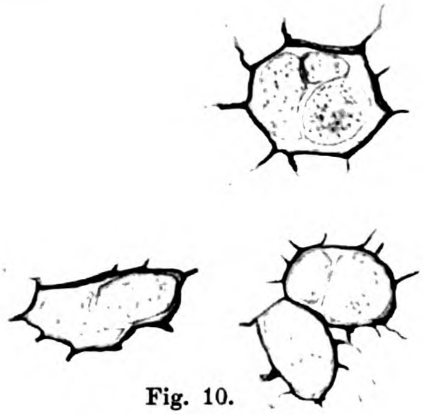


Fig. 10.

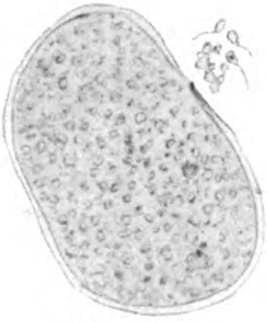


Fig. 11.

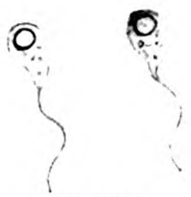


Fig. 11 a.

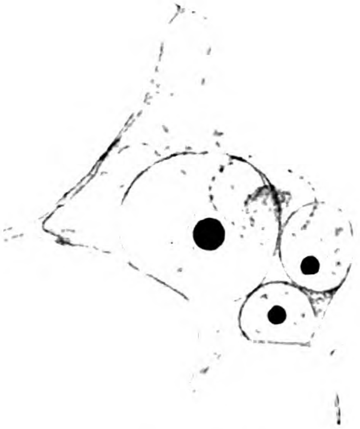


Fig. 12 b.

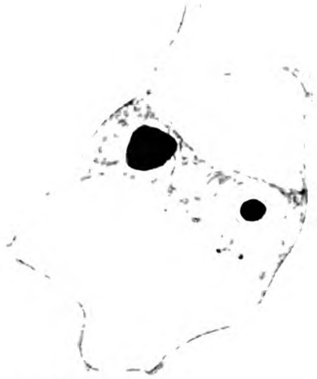


Fig. 12 a.

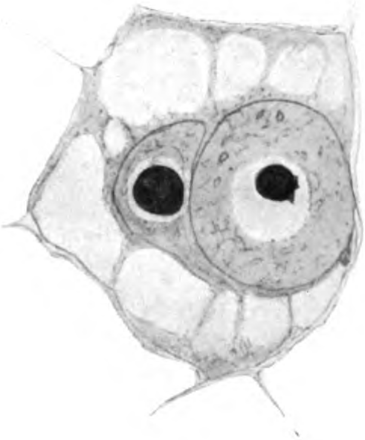


Fig. 13.

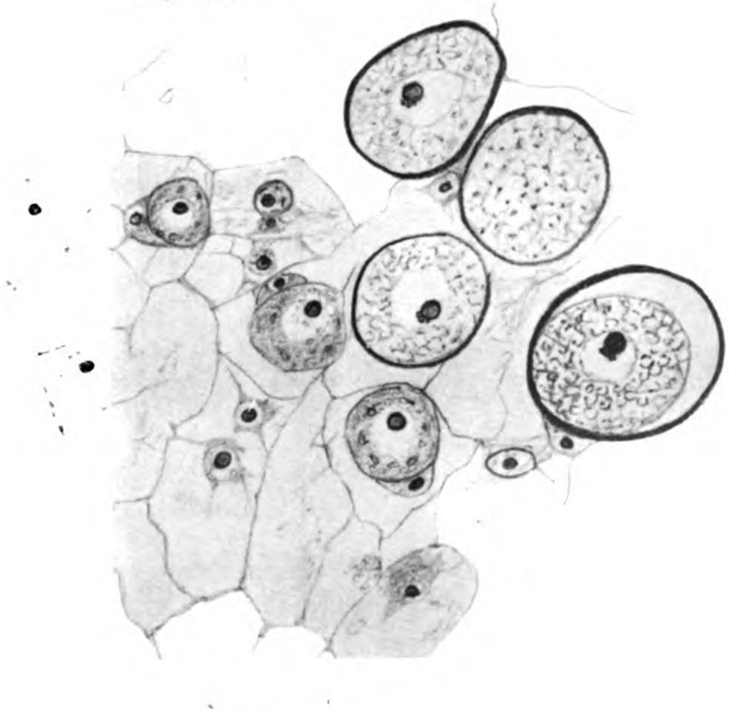


Fig. 14.

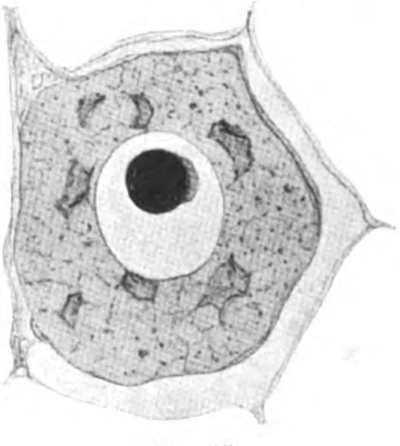


Fig. 15.

Fischer in Jena

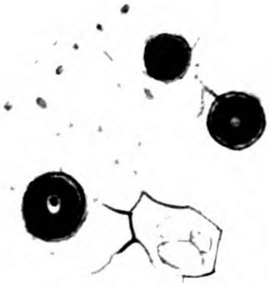


Fig. 16.

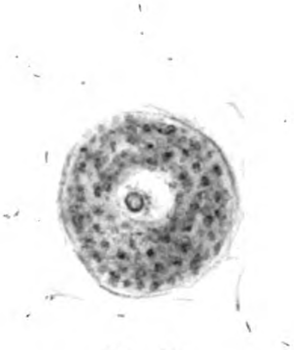


Fig. 17.

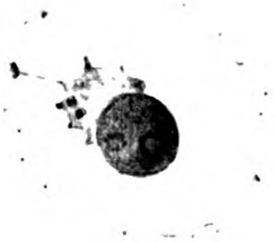


Fig. 22.

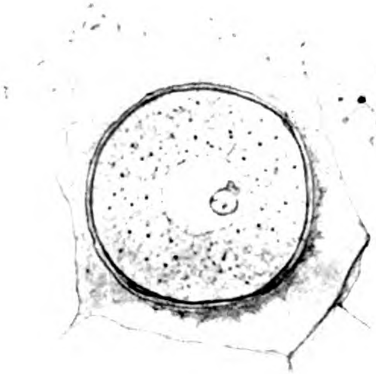


Fig. 18.

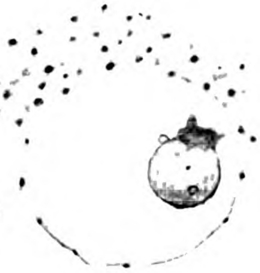


Fig. 18 a.

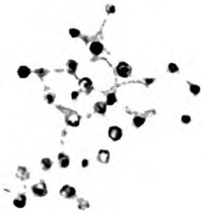


Fig. 19.

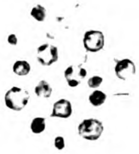


Fig. 20.

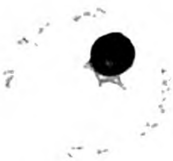


Fig. 21 a.

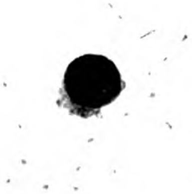


Fig. 21 b.

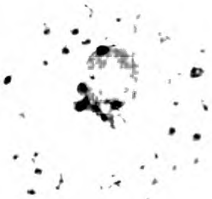


Fig. 21 c.

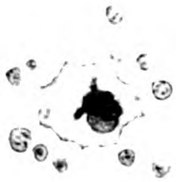


Fig. 21 d.

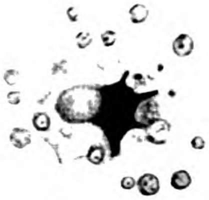


Fig. 21 e.

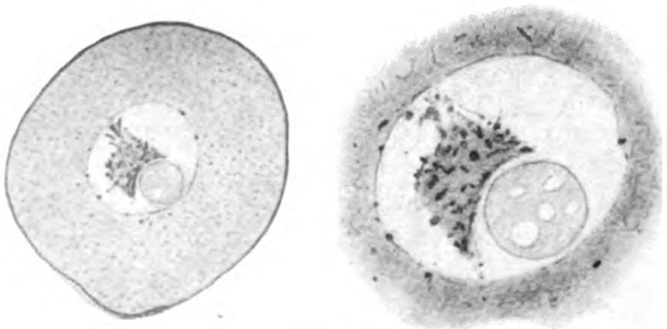


Fig. 23.

Verlag von Gusta

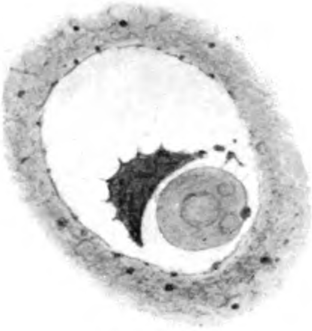


Fig. 24 a.

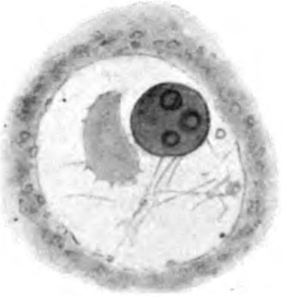


Fig. 24 b.

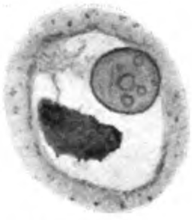


Fig. 24 c.

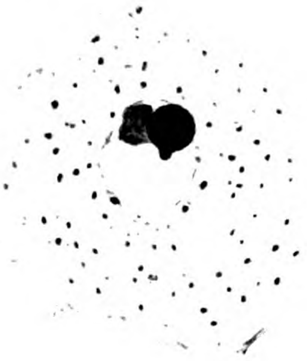


Fig. 25.

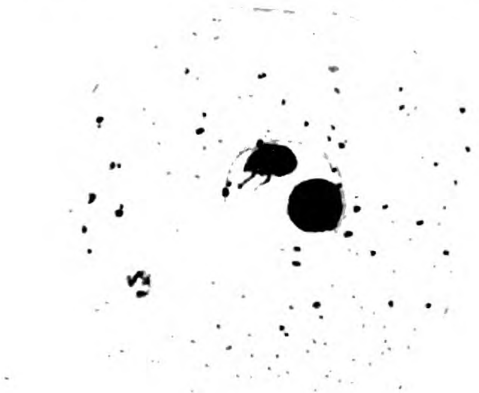


Fig. 26.

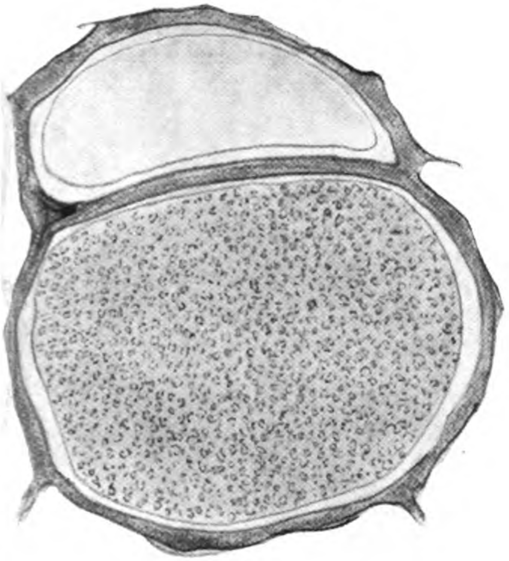
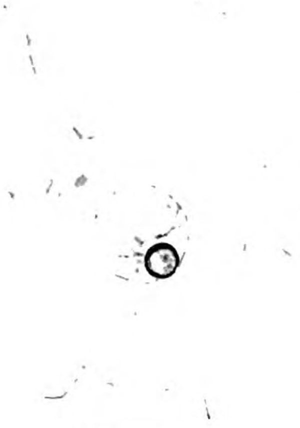


Fig. 27.



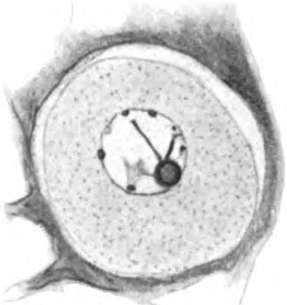


Fig. 28.

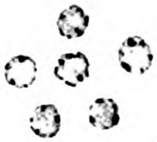


Fig. 27 a.

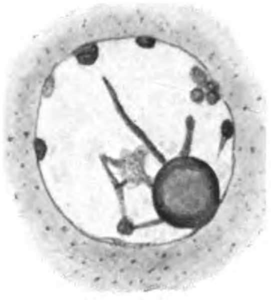


Fig. 28 a.

Fischer in Jena

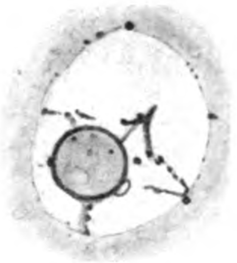


Fig. 30.

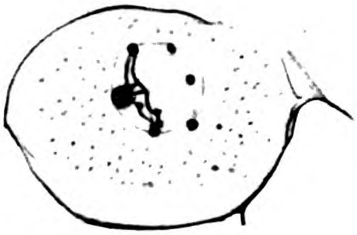


Fig. 29.

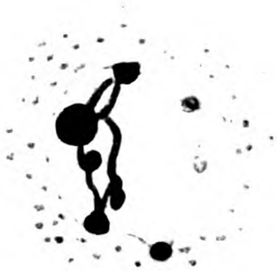


Fig. 29 a.

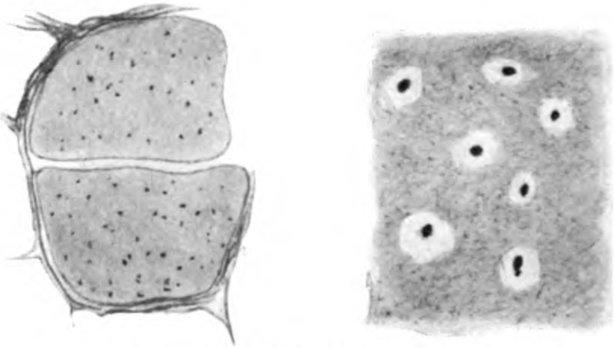


Fig. 31.

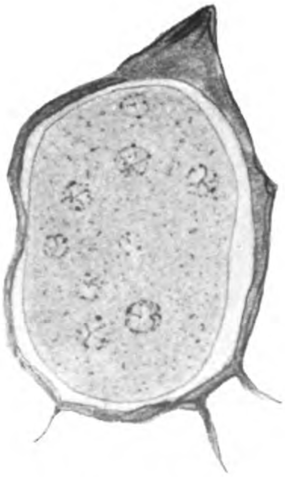


Fig. 32.

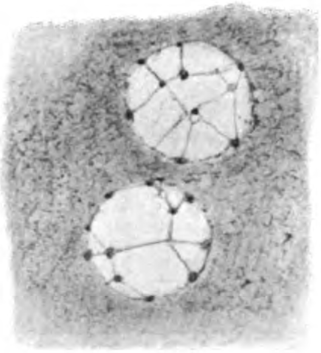


Fig. 32 a.

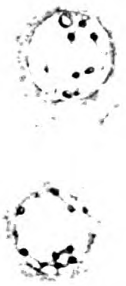


Fig. 32 b.

Verlag von Gustav

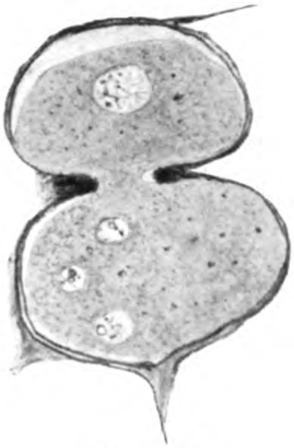


Fig. 33.

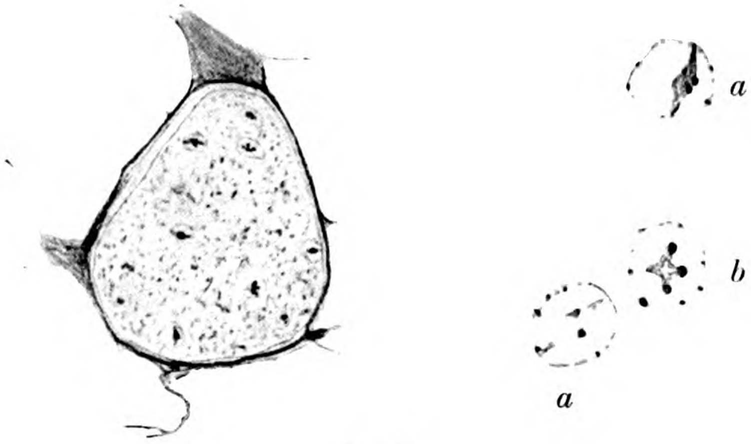


Fig. 34.

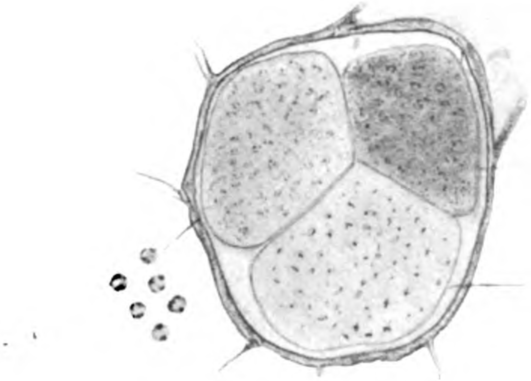


Fig. 35.

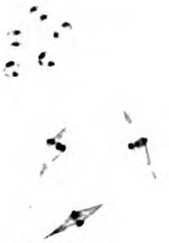


Fig. 35 a.

Fischer in Jena

Plate III.

Fig. 29. Parasite with chromatin appearing in the cytoplasm. 1 : 420.

Fig. 30. a) nucleus of same. 1 : 925. (Haidenhain's haematoxylin.) Another similar nucleus. 1 : 925. (Gram's gentian violet.)

Fig. 31. Two sporangia formed: primary nucleus gone: chromidia in the cytoplasm. 1 : 420.

Fig. 32. Cytoplasm of encysted parasite with many secondary nuclei. 1 : 420.
a) nuclei. 1 : 1375.
b) smaller nuclei from another specimen. 1 : 1375. (Gram's gentian violet.)

Fig. 33. Median section through double constricted sporangium. 1 : 420.

Fig. 34. Parasite with small dividing nuclei. 1 : 420.
a) spindles with round chromosomes at equatorial plane.
b) surface view of same. 1 : 1375. (Gram's gentian violet.)

Fig. 35. Sorus with three sporangia: In the upper two are seen the resting nuclei of the zoospores: in the lower the nuclei are dividing. 1 : 425.
a) spindles with round chromosomes at equatorial plane. 1 : 1400. (Delafield's Haematoxylin.)

Nachdruck verboten.

Media for the quantitative estimation of soil bacteria.

By **Jacob G. Lipman** and **Percy E. Brown**, New Brunswick, N.-J., U. S. A.

The difficulty of securing adequate information concerning the relative numbers of bacteria in the soil by the employment of bouillon gelatin, or of bouillon agar has been discussed by Hiltner and Störmer[1]). The former has the advantage of being easy to prepare and to inoculate, of showing characteristic differences in colony-formation, especially as to liquefaction, and of showing less interference by molds in the process of counting. The latter is better suited for the development of certain species that do not grow readily on gelatin, and of being proof against the rapid spoiling of the plates by liquefying species. After considering the advantages and disadvantages of the two solid media Hiltner and Störmer decided that gelatin is preferable to agar. They also decided that a slightly alkaline reaction is best for soil work.

In our own work gelatin appeared objectionable both on account of its high nitrogen content and its rapid liquefaction by certain species of soil bacteria. Hence, agar was employed in preference, after certain modifications to be noted in the following pages.

One of the serious objections raised to ordinary bouillon agar is that it allows the very rapid growth of certain spreading colonies which in a short time are apt to obscure the development of other species. In order to obviate this difficulty the following medium was tried:

1000.00	c. c.	tap water
10.00	gms.	dextrose
0.50	„	K_2HPO_4
0.20	„	$MgSO_4$
0.05	„	KNO_3
20.00	„	agar.

For the sake of comparison plates of bouillon agar, made slightly alkaline to phenolphthaleine, were prepared at the same time as those of the above medium designated as „synthetic medium". Inoculations were made from the different soil-infusions in exactly the same way, and the two sets of plates were kept under the same conditions. The following numbers of bacteria per gram were shown to have been present in several soils by the two media. It should be added here that the soils in question were originally derived from the same source, but were differentiated by being supplied with varying amounts of water.

---

[1]) Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens. Berlin 1903. p. 447.

Number of Bacteria per Gram of Soil.

Soil No.	Bouillon Agar	Synthetic Medium
51	700 000	7 200 000
52	660 000	7 000 000
53	1 860 000	10 000 000
54	1 000 000	5 000 000
55	320 000	2 280 000
56	300 000	2 260 000.

It is evident at a glance that the synthetic medium, slightly acid to phenolphthaleine, allowed the development of a vastly greater number of soil organisms than did the slightly alkaline bouillon agar. Moreover, the rapid growth of the spreading colonies was almost always checked on the synthetic medium and the interference with the development of other species was therefore eliminated to a very marked extent.

Similar differences were secured when other soils were used for the comparison of the two media. It was necessary to determine, therefore, whether the differences in quesiton were due to mere differences in reaction or to differences in chemical composition. Accordingly, three lots of agar were prepared as follows:

Synthetic Medium I			Synthetic Medium II			Synthetic Medium III		
1000.00	c. c.	tap water	1000.00	c. c.	tap water	1000.00	c. c.	tap water
10.00	gms.	dextrose	10.00	gms.	dextrose	10.00	gms.	dextrose
0.50	„	K_2HPO_4	0.50	„	K_2HPO_4	0.50	„	K_2HPO_4
0.20	„	$Mg\ SO_4$	0.20	„	$Mg\ SO_4$	0.20	„	$Mg\ SO_4$
0.05	„	KNO_3	0.04	„	$(NH_4)_2\ SO_4$	0.05	„	peptone
20.00	„	agar	20.00	„	agar	20.00	„	agar

The three media differing only in the character of the small amounts of nitrogenous substance contained in them, — namely, potassium nitrate, ammonium sulphate and peptone, respectively, were further modified as to reaction by the addition of $\frac{N}{10}$ NaOH as follows:

a) Reaction unchanged.
b) ¼ of total acidity neutralized with sodium hydrate.
c) ½ of total acidity neutralized with sodium hydrate.

There were thus secured nine sets of culture media which were inoculated with suspensions prepared from two different soils, one a clay loam, the other a shale soil. Precautions were taken to make the inoculation material as uniform as possible, and otherwise to secure uniform conditions as to temperature etc. The colonies on the several plates were counted at the end of three days with the aid of a magnifying glass and the following numbers found as calculated on the gram basis:

Number of Bacteria in the Clay Loam and Shale Soils.

	Synthetic Medium I		Synthetic Medium II		Synthetic Medium III	
	Shale	Clay Loam	Shale	Clay Loam	Shale	Clay Loam
a.	9 200 000	5 660 000	8 660 000	6 420 000	12 600 000	8 440 000
b.	6 100 000	4 220 000	6 000 000	4 760 000	5 400 000	5 640 000
c.	5 640 000	3 460 000	5 600 000	3 200 000	4 800 000	4 080 000

The above results show in a manner that cannot be mistaken that the neutralization of a portion of the acidity due to the small quantity of K_2HPO_4 reduced at once the number of colonies that appeared on the plates. In some instances the neutralization of half the acidity reduced the number of colonies on the plates fully onehalf. This may not appear extraordinary when we remember that most soils are slightly acid in reaction. Whether the same relations would appear in the case of limestone soils on the one hand, and of peaty soils on the other, still remains to be determined by actual experiment. Meanwhile the results just noted, as well as those given in the following pages are evidently of considerable importance for the technique of soil-bacteriological investigations.

As to the relative value of potassium nitrate, ammonium sulphate and peptone as a source of nitrogen, we note that the lastnamed gave the highest count in both the clay and shale soils when no neutralization of the acidity was attempted. On the other hand, when ¼ or ½ of the acidity was neutralized both potassium nitrate and ammonium sulphate proved superior in the shale soil, but inferior in the clay soil. Again, in the shale soil potassium nitrate proved superior to ammonium sulphate as a source of nitrogen, whereas in the clay soil the reverse was true. It appears, therefore, that apart from the reaction of the medium, the number of colonies on the agar plates is influenced also by the source of nitrogen employed. Attention should also be called here to the fact that in media III b. and III c. the shale and clay soils showed comparatively small differences in the number of colonies on the plates, while medium III a. showed the marked differences already alluded to. It appears, thus, that with peptone as a source of nitrogen the partial neutralization of the acidity in the culture medium reduced the number of colonies from the shale soil to a much greater extent than those from the clay soil.

As a further test of the synthetic media similar plates were prepared from three soils which had been kept at favorable moisture conditions in tight, metal boxes. Several weeks previously each of the forty-pound quantities of these soils received additions of 5 gms. of acid phosphate and 3 gms. of muriate of potash. Besides these they received: Soil 1, nothing; Soil 2.36 gms. of calcium carbonate; Soil 3.36 gms. of magnesium carbonate. The following numbers of bacteria were found in these soils:

Numbers of Bacteria per Gram of Soil

	Synthetic Medium I			Synthetic Medium II		
	Soil 1	Soil 2	Soil 3	Soil 1	Soil 2	Soil 3
a)	3 960 000	4 200 000	3 920 000	3 400 000	3 800 000	3 800 000
b)	3 600 000	2 700 000	3 120 000	800 000	2 180 000	1 900 000
c)	2 820 000	2 840 000	3 760 000	640 000	1 320 000	800 000

Synthetic Medium III

	Soil 1	Soil 2	Soil 3
a)	3 340 000	3 000 000	4 400 000
b)	1 900 000	760 000	3 100 000
c)	1 120 000	1 520 000	1 700 000

The results in this instance confirm those secured with the clay and shale soils, yet they are not as clear cut on account of the influence of the calcium and magnesium carbonates in soils 2 and 3, respectively. In the first place, it will be observed that in the unlimed soil 1 the results were like those in the clay and shale soils. The partial neutralization of the acidity was invariably followed by a reduction in the number of colonies on the plates. It is interesting to note, however, that the reduction was greatest where ammonium sulphate was used as a source of nitrogen, and least where potassium nitrate was used as a source of nitrogen. In soils 2 and 3 the conditions were somewhat different. Here the neutralization of ½ of the total acidity was followed in some instances by a proportionately smaller reduction; in fact, in at least 3 cases Medium III produced more colonies than the corresponding Medium II.

An explanation for these differences should be sought in the changed species relationships that were probably introduced by the calcium and magnesium carbonates. It should be remembered that the soil is not uniform in reaction throughout its entire mass, and that locally there may be a vigorous development of species, or varieties growing best at one reaction; while in other places near by these relations may be appreciably different. There may thus appear, in the case of the limed soils, much wider variations in the number of colonies on media of different reaction, than would appear in the case of unlimed soils. Unfortunately, our knowledge concerning the facts in the case is too meagre to justify definite conclusions. Everything considered, however, the present data confirm the first series of experiments with the synthetic media as to the influence of reaction on the number of colonies on the agar plates; also here the highest count was obtained in each case where no attempt was made to neutralize the acidity due to the 0.5 gms. of K_2HPO_4 per liter of culture solution.

As to the relative value of the potassium nitrate, ammonium sulphate and peptone as a source of nitrogen, we find, in Medium 1, the first of these best in soils 1 and 2, and the last named best in soil 3. In soils 1 and 2 the ammonium sulphate was apparently a better source of nitrogen than the peptone; however, in Medium 3 the reverse was true in so far as the relative value of ammonium sulphate and peptone was concerned.

The effect of increased acidity on the number of colonies on the agar plates.

The experiments recorded above demonstrated that a degree of acidity slighter than that due to 0.5 gms. of K_2HPO_4 per liter of culture medium was not suitable for the development of the largest number of colonies on the agar plates. It now remained to determine whether a greater degree of acidity would be even more satisfactory. Accordingly, five lots of agar were prepared as follows:

A	B	C	D	E
10 gms. dextrose	10 gms. dextrose	10 gms. dextrose	10 gms. dextrose	10 gms. dextrose
0.5 „ $K_2H\,PO_4$	1.0 „ $K_2H\,PO_4$	1.5 „ K_2HPO_4	0.5 „ K_2HPO_4	0.5 „ K_2HOP_4
0.2 „ $Mg\,SO_4$	0.2 „ $MgSO_4$	0.2 „ $MgSO_4$	0.2 „ $MgSO_4$	0.2 „ $MgSO_4$
0.05 „ peptone	0.05 „ peptone	0.05 „ peptone	0.05 „ peptone	0.05 „ peptone
1000 c. c. tapwater	1000 c. c. tapwater	1000 c. c. tapwater	1000 c. c. tapwater	1000 c. c. tapwater
20.0 gms. agar	20.0 gms. agar	20.0 gms. agar	20.0 gms. agar	20.0 gms. agar
			0.5 c. c. $\frac{n}{1}$ HCl	1.0 c. c. $\frac{n}{1}$ HCl

It will be seen that Medium B is like Medium A, but contains 1.0 gms. K_2HPO_4 instead of 0.5 gms. K_2HPO_4. Similarly, Medium C contains 1.5 gms. K_2HPO_4; Medium D, 0.5 gms. K_2HPO_4 and, in addition, 0.5 c. c. of normal HCl per liter; and Medium E, 0.5 gms. K_2HPO_4, and 1.0 c. c. of normal HCl per liter.

These media were employed for the preparation of agar plates in the customary manner from two soils, one a loam, the other a shale soil. The plates were kept in the incubator at 28° C for two days, and were then found to contain the following number of colonies as calculated on the basis of 1 gm. of soil.

Medium	Loam	Shale
A	8 200 000	12 600 000
B	8 400 000	11 600 000
C	5 320 000	10 400 000
D	8 500 000	8 640 000
E	8 000 000	6 800 000

The results show that in the loam soil, Media A, B, D and E gave practically the same results; in other words, the increased acidity due to 1.0 gm. of K_2HPO_4, or the slight amounts of HCl did not materially alter the number of colonies on the plates. On the other hand, the increased acidity due to the 1.5 gms. of K_2HPO_4 in Medium C evidently exerted a depressing effect on the development of some of the organisms. In the shale soil the highest number of colonies was secured on Medium A. The increased acidity of the medium due either to the larger amounts of K_2HPO_4, or the comparatively slight additions of HCl exerted a depressing effect on the growth of the organisms. We may conclude, therefore, that 0.5 gms. of K_2HPO_4 per liter of culture medium offers the best reaction for quantitative work. We may conclude, also, that slight variations in the degree of acidity affect the organisms from different soils to an unequal extent.

The effect of increased amounts of peptone and of potassium nitrate on the number of colonies on the agar plates.

The next point to be determined in connection with the study of the synthetic media was as to the optimum amounts of peptone or of potassium nitrate. Eight lots of agar were therefore prepared as follows:

I 1000 c. c. H_2O; 10 gms. dextrose; 0.5 gms. K_2HPO_4; 0.2 gms. $MgSO_4$; 0.5 gms. peptone; 20 gms. agar.
II Like I but with 0.1 gm. peptone
III „ „ „ „ 0.2 „ „
IV „ „ „ „ 0.5 „ „
V „ „ „ „ 0.05 „ KNO_3
VI „ „ „ „ 0.1 „ „
VII „ „ „ „ 0.2 „ „
VIII „ „ „ „ 0.5 „ „

The plates were prepared in the customary manner from two loam soils A and B, and were kept at 28° C for three days. At the end of that time the colonies were counted and calculated on the basis of 1 gm. of soil. The numbers found on the different media were as follows:

Medium	Soil A	Soil B
I	3 200 000	5 600 000
II	4 200 000	8 400 000
III	4 800 000	6 400 000

Medium	Soil A	Soil B
IV	6 800 000	9 400 000
V	6 200 000	6 400 000
VI	4 000 000	4 800 000
VII	4 200 000	6 800 000
VIII	4 800 000	6 400 000

A comparison of the different media shows us that in Soil A the increasing amounts of peptone up to 0.5 gms. per liter were accompanied by increasing numbers of bacteria on the plates. In Soil B there was also a corresponding increase, although it was not as regular as in Soil A. In so far as the potassium nitrate was concerned, however, the increasing amounts were followed by a decrease in the number of colonies in Soil A, while in Soil B the numbers were, with one exception, practically constant. It would seem, therefore, that in Soil A the addition of 0.05 gms. of KNO_3 per liter of culture medium was just as satisfactory as the addition of 0.5 gms. of peptone; on the other hand, in Soil B peptone proved a better source of nitrogen than potassium nitrate. Whatever these differences may have been due to, they indicate variations in the bacteriological make up of soils, that are deserving of further investigation.

The number of colonies on agar plates as affected by the reaction of the medium and the amount of peptone.

The nine lots of agar used in this experiment were made up as in the other instances and contained:

1) Synthetic agar (50 mg. peptone)
2) ,, ,, ,, ¼ of the acidity neutralized
3) ,, ,, ,, ½ ,, ,, ,, ,,
4) ,, ,, (100 mg. peptone)
5) ,, ,, ,, ¼ ,, ,, ,, ,,
6) ,, ,, ,, ½ ,, ,, ,, ,,
7) ,, ,, (200 mg. peptone)
8) ,, ,, ,, ¼ ,, ,, ,, ,,
9) ,, ,, ,, ½ ,, ,, ,, ,,

It will be noted that Media 1—3 differed only in their reaction, ½ of the acidity due to 0.5 gms. K_2HPO_4 per liter having been neutralized in 3, ¼ in 2, and none in 1. Similar differences were present in 4—6 and 7—9; moreover, Media 1—3 each contained 50 mgs. of peptone per liter; Media 4—6, 100 mgs. peptone; and media 7—9, 200 mgs. peptone.

Plates of these media were prepared from four different soils marked:

A	Soil from an old alfalfa field
B	Red shale soil from under sweet corn and tomatoes
C	Orchard soil
D	Unlimed red shale soil.

The plates were prepared in the usual way and kept at room temperature, July 5—8. At the end of that time the colonies were counted and calculated on the basis of 1 gm. of soil.

Medium	Soil A	Soil B	Soil C	Soil D
1	7 600 000	5 900 000	6 400 000	3 200 000
2	6 000 000	5 360 000	5 720 000	2 500 000
3	5 800 000	4 000 000	4 100 000	1 800 000
4	4 000 000	5 320 000	5 900 000	3 920 000
5	3 760 000	4 600 000	5 220 000	2 500 000
6	3 500 000	3 900 000	3 840 000	2 260 000
7	4 040 000	4 700 000	6 000 000	2 800 000
8	3 880 000	3 720 000	5 700 000	2 320 000
9	3 500 000	3 000 000	4 000 000	2 000 000

The data in the above table amply confirm those already secured in previous experiments. As the degree of acidity due to 0.5 gms. K_2HPO_4 per liter was diminished by additions of sodium hydrate the number of colonies appearing on the plates decreased in an unmistakable manner. This held good in all of the soils, including Soil A that had been limed and Soil D that had received no additions of lime. Furthermore, the presence of largeramounts of peptone did not prevent this decrease as may be seen by comparing media 1.4 and 7, respectively; everything considered, therefore, the synthetic medium containing, per liter, 0.5 gms. of K_2HPO_4 and 0.05 peptone (or 0.05 gms. KNO_3) proved most suitable for the development of a large proportion of the soil organisms.

After standing in the incubator for 12 days at room temperature the same soils were plated in the same manner on the 9 different media. The following number of colonies calculated on the basis of 1 gm. of soil were found:

Medium	Soil A	Soil B	Soil C	Soil D
1	5 560 000	5 080 000	1 800 000 (molds)	1 460 000
2	4 400 000	4 560 000	3 720 000	1 380 000
3	4 200 000	4 400 000	3 080 000	1 000 000
4	3 960 000	3 540 000 (molds)	1 680 000 (molds)	1 320 000
5	3 320 000 (molds)	4 120 000	3 000 000	1 280 000
6	3 940 000	3 980 000	2 500 000	1 280 000
7	4 000 000	4 240 000	2 600 000 (molds)	1 100 000
8	3 600 000	3 800 000	2 700 000	1 100 000
9	3 220 000	3 700 000	2 240 000	900 000

We have here again a confirmation of the results previously secured. The partial neutralization of the acidity due to 0.5 gms. K_2HPO_4 was again followed by a decrease in the number of colonies appearing on the plates. During the 12 days that passed between the first and second plating of the four soils molds had evidently developed in them, and appeared as a disturbing factor in a number of instances. It is rather interesting to note, in this connection, that the molds were sufficiently prominent to obscure or suppress the development of colonies of bacteria mostly in the agar in which none of the acidity due to the 0.5 gms. of K_2HPO_4 was neutralized; however, the disturbing influence of the molds in some instances, does not affect the conclusions already drawn, and it may be reiterated here that the synthetic medium with 0.5 gms. K_2HPO_4 and 0.05 gms. of peptone per liter is as suitable as any of those tried for the quantitative study of soil bacteria.

Finally we may add here still another experiment, in which four synthetic media were employed with fresh samples of the four soils described above. Of the four media in question 1 contained 0.5 gms. K_2HPO_4 and 0.05 gms. peptone per liter, aside from the other ingredients used in the customary amounts. Medium 2 differed from the preceding in that it contained 1.0 gm. of K_2HPO_4; while Media 3 and 4 contained in the same way 1.5 gms. and 2.0 gms. respectively of K_2HPO_4. The plates were prepared as in the other experiments and kept at room temperature between July 20 th and 23rd. At the end of that time the following numbers of colonies, calculated on the one gram basis of soil were found:

Medium	Soil A	Soil B	Soil C	Soil D
1	5 630 000	5 500 000	3 500 000	2 500 000
2	4 200 000	4 700 000	2 660 000	1 980 000
3	3 000 000	3 200 000 (molds)	1 400 000 (molds)	1 200 000 (molds)
4	2 500 000	3 100 000 (molds)	1 320 000	1 460 000

In this case also, the agar containing 0.5 gms. K_2HPO_4 per liter showed the highest number of colonies on the plates. As the amount of K_2HPO_4 was gradually increased the number of colonies on the plates decreased; this was found to be true in all of the soils employed. We may note, likewise, that the increasing acidity encouraged the growth of molds as for instance in medium 3 inoculated with soils B, C and D.

It remains now to state the reaction of the agar as found by actual titration after sterilization in the autoalove. Determinations at different times with different lots of synthetic agar containing 0.5 gms. K_2HPO_4 and 50 mgs. of KNO_3 or peptone per liter showed the reaction to range from + 0.3 per cent to + 0.5 per cent. In the final series of titration with large amounts of media the following reactions were found:

Synthetic agar with 0.5 gm. K_2HPO_4 per liter = + 0.5 %
" " " 1.0 " " " " = + 0.84 %
" " " 1.5 " " " " = + 1.09 %

While slight differences in concentration must necessarily occur in the filtration of the agar, the modification thus occasioned in the reaction of the medium is comparatively unimportant as shown by the preceding figures. It is evident, therefore, that an acidity equivalent to 5 c. c. $\frac{N}{1}$ HCl per liter, or of 0.5 c. c. per 100 c. c. of the medium offered the best conditions for the development of a large number of colonies.

It is hoped that the data presented here will prove of service to students of soil bacteriology, and that they will stimulate further inquiry concerning the quantitative relations of soil bacteria as affected by soil treatment.

Nachdruck verboten.

Future methods of soil bacteriological investigations.

By **H. J. Conn**, Ithaca, N.-Y.

There appeared in this periodical (Vol. 23. No. 1/5) an article by H. Fischer entitled: Besitzen wir eine brauchbare Methode der bakteriologischen Bodenuntersuchung? This was followed by a second (Vol. 24. No. 1/4). The former of these was answered by F. Löhnis in a recent number (Vol. 24. No. 5/7). Fischer insists that we have at present no adequate method of bacteriologial soil study; the Remy-Löhnis method, he declares, employes such artificial conditions as to give results that cannot be dependeddon, and is therefore worse than useless. In the latter article, indeed, he reports experiments of his own showing that when this method is employed the results depend on the soil from which the extract is made, not on the one used for inoculation. In conclusion Fischer states that it is from a botanical study of the soil organisms that we may expect future developements rather than from either Remy's method or mere quantitative bacteriological investigations. In his reply Löhnis defends Remy's method showing that Fischer's criticisms are unjust; he agrees with Fischer that an adequate method may not yet be found, but insists that it is a useful rather than an adequate method that is demanded. Remy's method he shows to have been useful in the past and declares that it will prove even more so in the future. Altho I do not by any means deny the past uesfulness of Remy's method there seems to be more to say in support of Fischer's views. There is, however, one side of the question that has not been discussed by Fischer or by any other writer.

Bacteriology has seldom made much progress except by the systematic study of pure cultures with the purpose of arranging the species into easily recognized and significant groups. Not till this has been done have the results in any line of work become intelligible. In the study of milk bacteria, for example, the general subject of milk souring had long been investigated and the lactic acid organism had been isolated, but it was not till the flora of the milk had been studied systematically that the real significance of this type of organism was fully appreciated. It was only after this that it was possible to show its great power of surviving in the struggle for existence. Still more recently it has been shown (by Marshall (1) of Michigan) that the lactic acid organism does not act alone in ordinary milk but that its effects are modified by the presence of various other bacteria. This line of study promises significant results. Has anything of the kind been done in the case of soil? Nothing whatever. We know that certain groups are important, but this we know simply because of their relation to the nitrogen problem. The vast numbers of bacteria that throng our gelatin or agar plates are almost unclassified and many of them unnamed or so poorly described that no one can identify them. Are any of these except the ammomifiers important? Are the ammonifiers themselves of any significance except as reducers of proteid? Which species, in any given conditions, are the most capable of surviving in the struggle for existence? Do the nitrifiers, denitrifiers, etc. act alone, or are there other species which are capable of modifying their activities? All these questions are of fundamental importance, yet we are wholly unable to answer them.

There seems little doubt that we must not neglect these questions if we wish to put soil bacteriology on a firm foundation. It is quite evident, however, that they cannot be answered by Remy's method, even though Fischer's criticisms of it are not wholly justified. Of Remy's method, whatever may be said in its favor, we must acknowledge that it places an unknown number of unknown organisms under conditions which are totally new to the bacteria and which are sure to vary, try as we will to control them. Besides these objections it must also be admitted that this method shows us only the results of bacterial activity without teaching anything in regard to the processes involved. It is true that so far as regards practical value at the present moment Remy's method has no rival unless it be that proposed by Stevens (2), Withers and Fraps (3) which has not yet stood the test of time and may deserve the criticisms made by Löhnis. It is also true that we want a useful rather than an adequate method of studying the soil bacteria. But it would be folly to spend all our time on a method that is useful at present but which evidently cannot solve many of the important problems that that demand our attention. It will be better to undertake a line of study that is more likely to bring out facts necessary to establish a still more useful method in the future. Before such a method is established we must know more about the total bacterial flora of the soil — and it matters not whether we call this method botanical, as does Fischer, or apply to it some other term.

It may be argued that we have no means of carrying on such a vast study as this would require and that it would be a waste of time to attempt the impossible. This, however, is hardly the case today. Harding and Prucha (New York, Geneva Station, Tech. Bul. 8.) have shown that it is possible, in the case of cheese, to study qualitatively the total bacterial (flora capable, that is, of growing on ordinary media in the presence of air), handling succesfully some thousands of cultures in the course of a single series of experiments. In this work they are merely proceeding further on the line of study begun by H. W. Conn and Esten (4) in the last decade; the prelliminary work of these two investigators made possible the much more acurate work of Harding and Prucha. On soil bacteria not even this preliminary work has been done. There is, however, no reason why this sort of work cannot be done now, adapting to it the more advanced methods employed by the Geneva investigators. New media would have to be devised, an dmethod sworked out for the study of the anaerobic flora; but these difficulties are not insurmountable. Such a method would have as its immediate result the classification of bacteria into groups based mainly on their physiological activities. Later it would show us which of these groups predominated under any given conditions; from this we would learn better than ever before which bacteria were associated with the various phenomena, and might also discover how we could vary the conditions so as to increase the beneficial and decrease the harmful forms.

Such a line of study might be accompanied by other work similar to Remy's but using soils in the place of solutions, as proposed by Withers and Fraps (3). This work, however, has the same disadvantages as does Remy's, namely that it shows results but neglects the processes. But it is certain that as fast as the groups of organisms are recognized and classified the effects of each will have to be found on soils rather than on liquid culture media. It is true that the difficulties of analysis are great when soil is used, but work with solutions alone would, in this case, be almost useless.

Löhnis divides soil bacteriology into three branches: 1) that which is concerned with the number and kinds of organisms in general, 2) that which considers the functions and characteristics of the special bacteria that are important to plant life, and lastly, 3) that which tries to modify the soil bacteria so as to benefit the crops. These three Löhnis says have been developed separately. It may well be asked how we can know in a given case whether the study of a particular organism falls in the first or the second class. Is it not possible that many of the bacteria which we now call miscellaneous may be of far more importance to plant life than we suppose? If so may not the study of the bacteria in general lead to results as significant in solving definite soil problems as any we could obtain if we confined our attention to the nitrogen organisms?

It will be a long time yet before soil bacteriology has outgrown its infancy, but it will have made a decided advance towards maturity when we have learned to distinguish fundamental principles from superficial facts and have directed our attention to the former. There seems little doubt that

the only way to learn these fundamental principles is to find out which species are truly important and which are merely accidental types of no significance. This is to be learned by a qualitative and comparitative study of the soil microflora rather than by the method of Remy. Remy's method has been of use in the past; in the future, if we wish to make any great advance in our knowledge, we must learn first to distinguish as rapidly as possible the different bacteria present in any given soil and then must study the significance of the forms we have learned to recognize.

Cornell Experiment Station.
Ithaca, N. Y., U. S. A., Sept. 1909.

Literatur.

1) **Marshall:** Mich. Expt. Sta. special Bul. 42.
2) **Stevens:** This periodical: 23 p. 355; also 23 p. 776.
3) **Withers and Fraps:** N. C. Expt. Sta. Rept. 1902; also Rept. 1903. p. 33.
4) **Conn and Esten:** Conn. Storrs Sta. Rept. 1906. p. 91.

Nachdruck verboten.

Zur Methodik der Bakterienzählung.

[Mitteilung aus der agrikulturchemischen Versuchsstation Berlin, Institut für Versuchswesen und Bakteriologie a. d. Königl. Landw. Hochschule.]

Von **Hugo Fischer.**

Für die bisher von mir ausgeführten Bakterienzählungen in Bodenproben hatte ich mich eines Nährbodens von folgender Zusammensetzung bedient:

Agar	1¼	Proz.	K_2HPO_4	0,1	Proz.	Mineralische Nährlösung nach Arthur Meyer.
Dextrose	0,1	„	$CaCl_2$	0,01	„	
weinsaur. Ammon.	0,1	„	$MgSO_4$ kr.	0,03	„	
KNO_3	0,05	„	NaCl	0,01	„	
kryst. Soda	0,15	„	Fe_2Cl_6	0,001	„	

Bei der Zusammensetzung dieses Agars war ich von der Erwägung ausgegangen, daß den Bakterien des Bodens in der Regel nur recht geringe Mengen direkt assimilierbarer Nährstoffe zur Verfügung stehen, und daß dieser Umstand auch für einen künstlichen Nährboden in Betracht zu ziehen sei. Kalisalpeter gab ich hinzu, weil solcher ja in jedem normalen Boden enthalten ist und für manche — vielleicht für viele — Arten der Bodenbakterien eine geeignete Stickstoffquelle ist. Vergleiche mit anderen Agarböden, wie sie sonst in der Bakteriologie üblich sind, hatten denn auch ergeben, daß die Zahl der aufgehenden Keime bei weitem der der übrigen Nährsubstrate überlegen war; auf Agar mit Pepton- und Fleischextrakt z. B. (von jedem etwa 1 Proz.) wuchsen die Kolonien zwar weit üppiger, ihre Zahl blieb aber um ein mehrfaches hinter derjenigen meines Nährbodens zurück.

Der „Rekord“ war jedoch mit diesen Erfolgen noch nicht erzielt. In neuester Zeit fand ich Gelegenheit, jenen Nährboden mit einem bezw. zwei anderen zu vergleichen, welche beide ihn noch bedeutend übertrafen.

Im Jahrgang 1907 (erschienen 1908) des Jahresberichtes für angewandte Botanik, p. 121, berichtet K. Störmer über einen von ihm angewandten Nährboden, mittels dessen er vortreffliche Resultate erzielt hatte; leider ohne dabei die Zusammensetzung dieses Substrates anzugeben. Bei Gelegenheit des Geisenheimer Botaniker-Kongresses, August d. J., hatte Störmer die Freundlichkeit, mir sein Rezept mitzuteilen: Bodenabkochung aus gleichen Teilen Boden und Wasser durch einhalbstündiges Erhitzen auf 1 Atmosphäre Überdruck dargestellt (nach Störmer mitgeteilt bei Löhnis, Centralbl. f. Bakter. Abt. II. Bd. 19. p. 88, Anm.), dazu 0,2 Proz. K_2HPO_4[1]) und Agar, — also ohne alle weiteren, besonders organischen Nährstoffe.

Bei Gelegenheit einer anderen Zwecken dienenden Untersuchungsreihe, deren Ergebnisse später in ihrem Zusammenhange mitgeteilt werden sollen, stellte ich zum Vergleich Agarplatten, je 4 von jeder Art, von meinem eingangs beschriebenen und von Störmerschem Nährboden auf. Es handelte sich um 4, von gleichem Ausgangsmaterial, verschieden behandelte Böden; die Verdünnung betrug 1 : 400 000.

Die Auszählung der Platten ergab:

Tabelle I.

	A. Agar mit Min.-Lsg., 0,1 Proz. Dextrose, 0,1 Proz. weins. Ammon., 0,05 Proz. KNO_3	B. Agar mit Bodenauszug, + 0,2 Proz. K_2HPO_4
I Bakterien	3 400 000	25 500 000
Schimmel	600 000	1 100 000
II Bakterien	74 800 000	95 900 000
Schimmel	6 900 000	6 900 000
III Bakterien	95 900 000	111 200 000
Schimmel	6 500 000	4 800 000
IV Bakterien	78 400 000	81 800 000
Schimmel	7 000 000	6 400 000
Relative Gesamt-Keimzahlen: I	100	665
II	100	125
III	100	113
IV	100	103
Gesamt-Durchschnitt:	100	122

Ein sehr beträchtliches Plus auf Seiten des Störmerschen Nährbodens ist nicht zu verkennen; obwohl die Zahlen nicht geringen Schwankungen unterliegen, hat doch die zweite Reihe stets die höchsten Ziffern.

Doch konnte ich in einem weiteren Versuch die Keimzahlen abermals bedeutend steigern. Gelegentlich meiner Bemühungen, das eigentliche Agens zu ergründen, das in den Bodenextrakten in der von Löhnis eingeführten Modifikation der Remyschen Methode die spezifische Wirkung hervorbringt (vgl. meine Veröffentlichung in Centralbl. f. Bakter. II, 24, 62), hatte ich zum Vergleich mit dem nach obiger Vorschrift hergestellten Bodenauszug einen zweiten verwendet, der in gleicher Weise, nur statt des reinen Wassers mit einer 0,1-proz. Lösung von krist. Soda bereitet war. Die starke Förderung der Blutmehlzersetzung, die ich an jenem zweiten Extrakt nachweisen konnte (a. a. O. S. 69) veranlaßte mich, nun auch einen entsprechenden Agarnährboden zu verwenden: Bodenextrakt wie beschrieben + 0,2 Proz. K_2HPO_4 + 1¼ Proz. Agar. Die verglichenen Böden waren nicht dieselben, wie in Tabelle I, aber von demselben Material und ganz wie diese behandelt, nur hatte diese Reihe 3 Wochen länger angesetzt gestanden.

---

[1]) Löhnis verwendet zu seinen Kulturen in Bodenauszügen nur den vierten Teil obiger Phosphatzugabe. Die stärkere Dosis konnte aber für unsere Zwecke keinesfalls schaden, da erstens etwas Phosphat beim Sterilisieren immer ausfällt, und Bakterien wie andere Mikroorganismen auch für höhere Phosphorgaben höchst dankbar sind.

Es resultierten die Zahlen:

Tabelle II.

		A. Agar mit Min.-Lsg., 0,1 Proz. Dextrose, 0,1 Proz. weins. Ammon, 0,05 Proz. KNO_3	B. Agar mit Bodenauszug, + 0,2 Proz. K_2HPO_4	C. Agar wie B., jedoch mit 0,1 Proz. krist. Soda extrahiert
I	Bakterien	1 600 000	4 400 000	5 400 000
	Schimmel	700 000	700 000	1 400 000
II	Bakterien	48 800 000	83 700 000	88 900 000
	Schimmel	2 800 000	4 500 000	5 500 000
III	Bakterien	48 800 000	73 100 000	115 400 000
	Schimmel	4 800 000	3 100 000	4 200 000
IV	Bakterien	43 900 000	82 300 000	93 400 000
	Schimmel	2 800 000	2 500 000	4 000 000
Relative Gesamt-Keimzahlen:	I	100	222	296
	II	100	151	183
	III	100	142	223
	IV	100	181	209
Gesamt-Durchschnitt:		100	165	206.

Auch hier gab also der zweite Nährboden bessere Zahlen als der erste, der dritte aber noch viel höhere. Die Zahl der Schimmelrasen war in B zum Teil geringer als in A, in C aber höher als in A. Ihre Entwicklung war jedoch auf B und C weniger üppig als auf dem zuckerhaltigen Nährboden A — ein entschiedener Vorzug gegenüber letzterem, da zuweilen ein Schimmelmycel die ganze Platte verderben kann.

Die fördernde Wirkung der Bodenextrakt-Nährböden kann nun nicht in ihrem Nährstoffgehalt gesucht werden; es geben ja gerade nährstoffreiche Substrate, wie oben betont, schlechtere Zahlen. Günstig auf die Keimzahl wirkt gerade die Armut an Nährstoffen, wozu wohl als zweites eine anregende Wirkung der im Auszug gelösten Humuskörper hinzukommt; der mit 0,1 Proz. Soda bereitete Auszug verrät seinen größeren Reichtum an solchen durch dunklere Färbung, wie schon a. a. O. betont.

Über eine solche anregende Wirkung der ja noch in mancher Hinsicht rätselhaften Humuskörper liegen nun schon recht verschiedene Beobachtungen vor: für nitrifizierende Bakterien von Müntz und Lainé (Compt. rend. Acad. Paris, 142, 1906, 430), für Azotobacter von Krzemieniewski (Extrait bull. Acad. des scienc., Cracovie 1908, 929; Autorreferat im Centralbl. f. Bakter. II, Bd. 23, p. 16), für Harnstoffbakterien von Christensen (Vorl. Mittlg., ebenda, Bd. 24, p. 130), von mir selbst für den Fäulnisvorgang (ebenda, Bd. 24. p. 62).

Nach Christensen sollen die Humuskörper (sogar, entgegen früheren Erfahrungen, auch die künstlich aus Zucker hergestellten) von den Ureobakterien als Nährstoffe verwertet werden können. Ähnliches dürfte auch für die in Bodenauszug-Agarplatten aufgegangenen Keime gelten, da die in Bodenextrakt gelöste organische Substanz wohl im wesentlichen als „humusartig“ anzusehen ist. Beide Wirkungen, ernährende und Reizwirkungen, können sehr wohl nebeneinander hergehen. Selbstredend wirkt der Bodenauszug auch als Nährlösung, denn andere organische Substanz war nicht vorhanden, außer dem Agar, der wegen seiner sehr langsamen Zersetzbarkeit als Nährstoff nicht in Frage kommt.

Berlin, 29. September 1909.

Neue Literatur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Oberbibliothekar der Kgl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher usw.

Jaeger, Heinrich, Die Bakteriologie des täglichen Lebens. In 18 gemeinverständlichen Vorträgen. Hamburg, Voß 1909. Bd. 16, 620 p. 4 farb. Taf. u. 108 Fig. 8⁰. 8 ℳ

Kißkalt und **Hartmann,** Praktikum der Bakteriologie und Protozoologie. 2. erweit. Aufl. Teil 1: Bakteriologie. Jena (Fischer) 1909. Bd. 6, 111 p. 8⁰. 40 Fig. 2,50 ℳ

Untersuchungsmethoden, Instrumente usw.

Arndt, Georg, Apparat zur selbsttätigen Fixierung und Einbettung mikroskopischer Präparate. München. med. Wchnschr. Jg. 56. 1909. No. 43. p. 2226—2227. 3 Fig.

Giemsa, G., Über die Färbung von Feuchtpräparaten mit meiner Azur-Eosinmethode. (Dtsche. med. Wchnschr. Jg. 35. 1909. No. 40. p. 1751—1752.)

Kowler, R., Einfache Wässerungsvorrichtung für fixierte Objekte. 2 Fig. (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 26. 1909. H. 2. p. 259—260.)

Systematik, Morphologie.

Leonardi, Gustavo, Seconda contribuzione alla conoscenza delle Cocciniglie italiane. (Boll. d. Laborat. di Zool. gen. e agr. Portici. Vol. 3. 1909. p. 150—192. 64 Fig.)

Silvestri, F., Descrizione e cenni biologici di una nuova specie di Asphondylia dannosa al lupino. (Boll. d. Laborat. di Zool. Gen. e agr. Portici. Vol. 3 1909. p. 3—11. 11 Fig.

Weise, J., Eine neue Coccinellide. (Boll. d. Laborat. di Zool. gen. e agr. Portici. T. 3. 1909. p. 205—206.)

Biologie.

Alessandrini, Giulio, Studi ed esperienze sulle larve della Piophila casei. (Vermi del formaggio). (Arch. de Parasitol. T. 13. 1909. No. 3. p. 337—382. 33 Fig.)

Alliot, Henri, et **Gimel, Gilbert,** Du lavage des pommes à cidre avec un oxydant calcique: défécation rapide du moût et fermentation pure. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 149. 1909. No. 12. p. 532—534.)

Anschütz, German, Über den Entwicklungsgang des Haemoproteus orizivorae nov. spec. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.-Bd. 51. 1909. Heft 6. p. 654—659. 2 Taf.)

Ehrlich, Felix, Über die Entstehung der Bernsteinsäure bei der alkoholischen Gärung. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschn. Zucker-Ind. Lief. 642. 1909. p. 645—672.)

Fernbach, A., Sur un poison élaboré par le levure. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 149. 1909. No. 8. p. 437—439.)

Griffon, Ed., Sur le rôle des bacilles fluorescents de Flügge en pathologie végétales. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 149. 1909. No. 1. p. 50—53.)

Guilliermond, A., Remarques sur l'évolution nucléaire et les mitoses de l'asque chez les Ascomycetes. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 149. 1909. No. 5. p. 350—352.)

Graf, G., Von der Großgärung. (Allg. Ztschr. f. Bierbr. u. Malzfabrikat. Jg. 37. 1909. No. 40. p. 479—482; No. 41. p. 495—497.)

Kayser, E., et **Demolon, A.,** Sur la vie de la levure après fermentation. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 149. 1909. No. 2. p. 152—155.)

Köck, G., Bakterien als Pflanzenschädlinge. (Monatshefte f. Landwirtsch. Jg. 11. 1909. H. 8. p. 247—251.)

Krzemieniewski, S., Beitrag zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Azotobacter und Radiobacter. (Dtsche. landw. Presse. Jg. 36. 1909. No. 49. p. 533.)

Lühder, Die Beseitigung von Infektionen bei dem kontinuierlichen Gärverfahren. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. Jg. 32. 1909. N. 42. p. 485—487; No. 43. p. 496—497.)

Martinand, P., La fermentation alcoolique en présence de l'acide sulfureux. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 149. 1909. No. 9. p. 465—467.)

Maurain et **Warcollier,** Action des rayons ultra-violets sur le cidre en fermentation. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 149. No. 2. p. 155—157.)

Rosenblatt, M., et **Rozenband, M.,** Sur l'influence paralysante exerciée par certains acides sur la fermentation alcoolique. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 149. 1909. No. 4. p. 309 bis 312.)

Roussy, A., Sur la vie des Champignons en milieux gras. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 149. 1909. No. 10. p. 482—484.)

Silvestri, F., A proposito di certe osservazioni sulla Tignola dell' olivo. (Boll. d. Laborat. di Zool. gen. e agr. Portici. Vol. 3. 1909. p. 340—342.)

Takahashi, T., A preliminary note on the varieties of Aspergillus oryzae. (Journ. College of agric. Tokyo. Vol. 1. 1909. No. 1. p. 137—140.)

—, Studies on the microorganisms of „Tanezu" (Japanese vinegar ferment). (Journ. Coll. of agric. Tokyo. Vol. 1, 1909. No. 9. p. 103—134. 1 Taf.)

Wasmann, E., Über den Ursprung des sozialen Parasitismus, der Sklaverei und der Myrmekophilie bei den Ameisen. (Biol. Centralbl. Bd. 29. 1909. No. 19. p. 587—604.) 2 Fig.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Admiraal, K., De Kankerziekte der Boomen (veroorzaakt door Nectria ditissima). (Nieuwe goedkoope uitgaaf Amsterdam 1908. 103 p. 5 Taf. 3 M.

American gooseberry mildew. (Natal. Agric. Journ. Vol. 12. 1909. N. 2. p. 117—125.)

Appel, Die Kartoffelernte 1908 und die Blattrollkrankheit. (Ill. landw. Ztg. Jg. 29. 1909. N. 18. p. 176—178. 3 Fig.)

Arnim-Schlagenthin, Die Blattrollkrankheit der Kartoffeln. (Dtsche. landw. Presse. Jg. 36. 1909. N. 10. p. 102—103.)

Arthur, J. Ch., North American rose rusts. (Torreya 9. 1909. p. 21—28.)

Auftreten einer neuen Kleeseideart in Italien. (Monatsh. f. Landwirtsch. Jg. 2. 1909. Heft 5. p. 180—181.)

Bernard, Ch., De ziekten der theeplant. (Teysmannia. 19. 1908. p. 791—800.)

Black spot in oranges. (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. 20. 1909. Part 3. p. 223 bis 228. 1 Fig.)

Bokutinsky, G., Beiträge zur Erforschung der Blattrollkrankheit. (Monatsh. f. Landwirtsch. Jg. 2. 1909. Heft 4. p. 118—130. 4 Fig.)

Die Fleckenkrankheit der Birnbäume. (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. 37. 1909. Heft 25. p. 612—615. 7 Fig.)

Die Herbstgrasmilbe (Leptus autumnalis). (Schweizer. landw. Ztschr. Jg. 37. 1909. Heft 25. p. 587—590. 1 Fig.

Dry scab of potatoes. (Journ. of the board of agric. Vol. 16. 1909. N. 1. p. 31—32.)

Dumont, Th., Nouvelles observations sur la teigne de l'olivier (Prays oleae Bernard). (Compt. rend. Acad. Sc. T. 148. 1909. No. 21. p. 1408—1409.)

Erichson, J., Der Stachelbeermeltau. Herausg. auf Veranlassung d. K. agrikulturbot. Anstalt München.. Stuttgart, Ulmer 1909. 1 Taf. 29,5×21 cm. 0,80 M.

Evans, J. B. Pole, Peach freckle or black spot. (Transval agric. Journ. Vol. 7. 1909. N. 27. p. 446. 2 Taf.)

von Faber, F. C., Die Krankheiten und Schädlinge des Kaffees 2. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909. N. 6—9. p. 193—219.)

v. Faber, F. C., Die Krankheiten und Parasiten des Kakaobaumes. Eine Monographie mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse in den deutschen Kolonien. (Arb. a. d. K. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. 7. 1909. p. 193—351.) 11 M.

Froggatt, W. W., Brown rot or twig blight (Monilia fructigena). (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. 20. 1909. Part 3. p. 202.)

Froggat, W. W., The handed Pumpkin beetle (Aulacophora oliverei Guéren). (Agric. Gaz. of New South Wales. Vol. 20. 1909. Part 3. p. 209—212. 1 Taf.)

Froggatt, W. W., Insect pests and their foes. (Journ. Dep. of agric. South Australia. Vol. 12. N. 7. p. 615—619. N. 9. p. 773—774.)

Fuller, Claude, Some common bayworms and basketworms. (Natal Agric. Journ. Vol. 12. 1909. N. 2. p. 185—195. 2 Taf. u. 10 Fig.)

Giesenhagen, K., Über zwei Tiergallen an Farnen. (Ber. d. Dtschn. bot. Ges. Bd. 27. 1909. Heft 6. p. 327—334. 1 Taf.)

Gomziekten van limoen — en andere citrusboomen. (Landbouw Journ. Kaap de goede hoop. Deel 34. 1909. N. 5. p. 503—515. 3 Fig.)

Gunn, David, The root louse of grape vines. (Transvaal agric. Journ. Vol. 7. 1909. N. 27. p. 508—512. 2 Taf. u. Fig.)

H., Der amerikanische Stachelbeermeltau. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau- u. -schutz. Jg. 7. 1909. Heft 4. p. 58—59. 1 Fig.)

Hauman-Merk, L., et **Devoto, J. A.,** Enfermedadas de las plantas observadas en las alrededores de la Capital Federal en los anos 1906—1908. (Bot. min. agr. Buenos Aires 10. 1908. p. 98—113.)

Henry, E., La maladie des chataigniers aux États-unis et en Europe. (Ann. de la Sc. agron. franç. et etrang. Sér. 3. Année 4. 1909. T. 1. Fasc. 4. p. 241—251.)

Herne, Arthur, S. Internal disease of potato- a chytridiaceous endophyte hitherto undescribed. (Prel. note). (Annal. Mycol. Vol. 7. 1909. N. 3. p. 286—288.)

Kaserer, H., Einige Beobachtungen über den „roten Brenner". (Allg. Wein-Ztg. Jg. 26. 1909. N. 21. p. 209—210.)

Kirchner, O., Die Meltaukrankheit der Eichen. (Allg. Forst- u. Jagd-Ztg. Jg. 85. 1909. p. 158—161.)

v. Kirchner, Brand und Rost des Getreides und ihre Bekämpfung. (Ill. landw. Ztg. Jg. 29. 1909. N. 30. p. 305—306.)

Kornauth, K., und **Reitmair, O.,** Die Blattrollkrankheit der Kartoffel und ihr Auftreten in Österreich. Korneuburg (Kuhkopf) 1909. 14 p. 8°. (Aus: Monatshefte f. Landwirtsch.) 60 M.

Kornauth, K., und **Reitmair, O.,** Studien über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österr. Jg. 12. 1909. H. 3. p. 97—125.)

Kreitz, W., Mitteilung über einige Kartoffelkrankheiten. (Ill. landw. Ztg. Jg. 29. 1909. N. 18. p. 176.)

Krüger, W., und **Wimmer, G.,** Über die Herz- und Trockenfäule der Zuckerrüben. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschn. Zucker-Ind. Lief. 640. 1909. p. 379—385.)

Krüger, W., und **Wimmer, G.,** Über die Herz- und Trockenfäule der Zuckerrüben. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. 16. 1909. N. 11. p. 167—171.)

Laubert, R., Rätselhafte Kropfbildungen an Eichen-, Birken und Rosenzweigen. (Dtsche landw. Presse. Jg. 36. 1909. N. 19. p. 211—212. 4 Fig.)

Lemcke, Alfred, Mitteilungen aus der Pflanzenschutzstelle. Weichkäferlarven. Rost und Brand des Getreides. (Georgine Jg. 2. 1909. N. 17. p. 103—104.)

Lindinger, Leonhard, Beiträge zur Kenntnis der Schildläuse und ihrer Verbreitung. (Ztschr. f. wiss. Insektenbiol. Bd. 5. 1909. Heft 4. p. 105—110. 9 Fig.)

Lucks, R., Der amerikanische Stachelbeermeltau (Sphärotheca mors uvae Berk et Curt). (Westpreuß. landw. Mitt. Jg. 14. 1909. p. 72.)

Lüstner, G., Altes und neues von den Feinden und Krankheiten des Beerenobstes. (Amtsbl. d. Landw.-Kammer f. d. Reg.-Bez. Wiesbaden. Jg. 91. 1909. N. 15. p. 102—103. Fig.)

Lüstner, Gustav, Insekten- und Pilzschäden in unseren Eichenwäldern. (Dtsche landw. Presse. Jg. 36. 1909. N. 26. p. 286—287. 3 Fig.)

Magnus, P., Eine neue Ramularia aus Südtirol nebst Bemerkungen über das häufige Auftreten solcher Conidienformen in gebirgigen Gegenden. (Ber. d. Dtschn. Bot. Ges. Bd. 27. 1909. Heft 4. p. 214—222. 1 Fig.)

Mally, C. W., The tok-tokje (Psammodes sp.) as a grain pest. (Agric. Journ. of the Cape of good hope. Vol. 34. 1909. N. 4. p. 417—719. 1 Fig.)

Massee, G., Plant diseases 9. Dry scab of potatoes (Spondylocladium atrovirens Harz). (Bull. misc. inform. R. bot. gard. Kew 1909. p. 16—18.)

Molliard, Marin, Production expérimentale de tubercules blancs et de tubercules noirs à partir de graines de Radis rose. (Compt. rend. Acad. Sc. T. 148. 1909. N. 9. p, 573—575.)

Muth, Fr., Über einige seltenere Schäden an der Rebe. (Mitt. d. Dtschn. Weinbau-Ver. Jg. 4. 1909. No. 7. p. 238—244. 3 Fig.)

Muth, Fr., Über einige seltenere Schäden an der Rebe. (Mitt. d. Dtschn. Weinbau-Ver. Jg. 4. 1909. No. 8. p. 266—273. 9 Fig.)

Müller, Karl, Der heutige Stand unserer Kenntnisse über den Heu- und Sauerwurm und seine Bekämpfung. (Wchnbl. d. Badischen landw. Ver. 1909. N. 15. p. 340—343. N. 16. p. 361—362.)

N., Le Phylloxera dans le département d'Alger. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. N. 808. p. 651.)

Notes on insect fungus and other pests. (Journ. of the board of agric. Vol. 15. 1909. N. 15; Vol. 16. 1909. N. 1; N. 2. Mit Fig.)

Pacottet, P., Maladie des pédicelles des grappes. (Rev. des viticult. Année 16. 1909. No. 814. p. 98—99.)

Paque, E., La maladie du chêne en 1908. (Bull. Soc. R. bot. Belg. 45. 1908. p. 344—354.)

Reinelt, J., Wurzelkropfbildungen bei der Zuckerrübe. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. 16. 1909. N. 5. p. 68—75; N. 6. p. 81—87.)

Rives, P., L'oidium du chêne. (Bull. Soc. nat. Ain 12. 1908. p. 17—19.)

Rolfs, R. H., and **Fawcett, H. S.,** Fungus diseases of scale insects and white fly. (Bull. Florida exp. stat. 1908. 17 p.)

Schaffnit, Der Haferflugbrand. (Landw. Centralbl. Jg. 37. 1909. N. 12. p. 124.)

Schander, R., Der amerikanische Meltau des Stachelbeerstrauches und seine Bekämpfung und Bearbeitung. Posen 1909. 4 p. 8⁰. (Flugbl. N. 4 d. Abt. f. Pflanzenkrankh. d. K. Wilhelm-Inst. f. Landw. in Bromberg.)

Schwartz, Martin, Die „Maden" des Kernobstes. Sammelref. (Gartenflora. Jg. 58. 1909. Heft 12. p. 260—264.)

Spiekermann, A., Über das außergewöhnlich starke Auftreten des Getreideblasenfußes am Roggen. (Landw. Ztg. f. Westfalen u. Lippe. Jg. 66. 1909. N. 26. p. 305.)

v. Stiegler, Zur Blattrollkrankheit der Kartoffeln. (Dtsche. landw. Presse. Jg. 36. 1909. N. 7. p. 65.)

Stift, A., Mitteilungen über im Jahre 1908 veröffentlichte bemerkenswerte Arbeiten auf dem Gebiete der tierischen Feinde und Krankheiten der Zuckerrübe. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. Jg. 16. 1909. N. 4; N. 5. p. 73—77.)

Störmer, K., und **Marshall, Fr.,** Die Runkelfliege (Anthomyia conformis Meig.) und ihre Bekämpfung. (Landw. Wchnschr. f. d. Prov. Sachsen. Jg. 11. 1909. N. 24. p. 240—241.)

Tavares, J. S., 1. Contribucio ad cognitionem cecidologiae Brasiliae. (Broteria. Vol. 8. 1909. Fasc. 1. 36 p. 8 Taf.)

Tr., Auftreten der Getreideblumenfliege in Vorpommern. (Landw. Wchnschr. f. Pommern. Jg. 12. 1909. N. 21. p. 163—164.)

Ulrich, P., Krankheiten und Schädlinge der Rüben. (Ill. landw. Ztg. Jg. 29. 1909. N. 38. p. 377—378. 7 Fig.)

Whetzell, H. H., Bean Anthracnose. (Bull. Cornell agr. exp. Stat. Ithaca. N. Y. 1908. p. 255.)

Wolff, Max, Die Getreidefliege. Flugbl. 5. (Landw. Centralbl. Posen. Jg. 37. 1909. N. 23. p. 263—264; N. 24. p. 276.)

Wulff, Th., Einige Botrytis-Krankheiten der Ribes-Arten. (Ark. bot. 1908. 12 p.)

Wulff, T., Botryliskrankheiten der Ribesarten. (Arkiv för Bot. Bd. 8. 1909. Heft 1/3· 2 Taf.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Appell, Anleitung zur Bekämpfung des Getreidebrandes. (Mitt. d. Dtschn. Landw.-Ges. 1909. Stück 16. p. 256—258.)

Annett, H. E., Virus for the destruction of rats and mice. (Tropical Agriculturist. Colombo. N. S. Vol. 32. 1909. No. 3. p. 263—265.)

B., A., Die Bekämpfung der Maikäfer. (Schweizer landw. Ztschr. Jg. 37. 1909. Heft 20. p. 495—497. Fig.)

Belle et **Fondard,** Le traitement de Mildion. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. No. 812. p. 47—48.)

Belle et **Fondard,** Les traitements de l'Oidium. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. No. 813. p. 75—77.)

Die Bekämpfung der Nonne. (Sächs. landw. Ztschr. 1909. N. 44. p. 231—232.)

Fischer, Friedrich, Die Schädlingsbekämpfung im Obstbau. (Schleswig-H. Ztschr. f. Obst- u. Gartenbau. 1909. N. 4. p. 25—26.)

Hiltner, L., Anweisung zur Verwendung des Schwefelkohlenstoffs im Wein- und Obstbau, in der Gärtnerei und in der Landwirtschaft. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau u. -schutz. Jg. 7. 1907. Heft 4. p. 45—53. 5 Fig.)

Kulisch, Paul, Über die Bekämpfung des Heu- und Sauerwurms mit Schmierseifenbrühen. (Landw. Ztschr. f. Elsaß-L. Jg. 37. 1909. N. 21. p. 494—496.)

Lamberger, Die Bekämpfung der Maulwurfsgrille oder Werre. (Ill. landw. Ztg. Jg. 29. 1909. N. 34. p. 339.)

Lesser, Die Bekämpfung der Pilzkrankheiten im Obstbau. (Landw. Wchnbl. f. Schleswig-Holstein. Jg. 59. 1909. N. 10. p. 153—154.)

Lesser, E., Vorbeugungsmittel gegen den Krebs der Obstbäume. (Schleswig-H. Ztschr. f. Obst- u. Gartenbau. 1909. N. 3. p. 17—19.)

Maisonneuve, P., Moreau, L., et **Vinet, E.,** La lutte contre le cigarier (Rhynchites betuleti Fab.) au moyen des insecticides. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. No. 813. p. 60—65; No. 814. p. 88—90; No. 812. p. 39—42.)

Marés, Roger, La défense contre le Phylloxera en Algérie. (Rev. de viticulture. Année 16. 1909. N. 808. p. 646—649.)

Marés, Roger, La défense contre le Phylloxera en Algérie. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. N. 809. p. 668—673.)

Müller, Das Canningsche Mittel gegen den Heuwurm. (Jahresber. d. Prov.-Wein- u. Obstbauschule zu Trier). Weinbau u. Weinhandel. Jg. 27. 1909. No. 32. p. 316—317.)

Oger, Abel, La lutte contra la Cochylis et le cigarier par l'arsenic. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. No. 815. p. 118—121.)

Raebiger, H., Eine neue Desinfektionsspritze. (Dtsche landw. Tierzucht. Jg. 13. 1909. N. 6. p. 66—67. 1 Fig.)

Schander, R., Die Organisation zur Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten in der Provinz Posen und Westpreußen. 2. Bearbeitung. Posen 1909. 3 p. 8⁰. (Flugbl. N. 1 d. Abt. f. Pflanzenkrankh. d. K. Wilhelms Inst. f. Landw. in Bromberg.)

Schwartz, Martin, Erprobte Mittel gegen tierische Schädlinge. (Dtsche landw. Presse. Jg. 36. 1909. N. 49. p. 530.)

Weber, C., Ein Beitrag zur Bekämpfung des Kiefernspinners. (Ill. landw. Ztg. Jg. 29. 1909. N. 50. p. 483—484.)

Zschokke, A., Über die Anwendung des Schwefelkohlenstoffes im Weinbau. (Mitt. d. Dtschn. Weinbau-Ver. Jg. 4. 1909. No. 7. p. 230—237.)

Inhalt.

Conn, H. J., Future methods of soil bacteriological investigation, p. 454.

Fischer, Hugo, Zur Methodik der Bakterienzählung, p. 457.

Hastings, E. G., and **Hammer, B. W.**, The Occurrence and Distribution of Organisms similar to the B. Bulgaricus of Yogurt, p. 419.

Huss, Harald, Pseudomonas Cowardi, eine pigmentbildende Bakterie, p. 401.

Krieg, W., Neue Infektionsversuche mit Uromyces Dactylidis Otth., p. 430.

Lipman, Jacob G., and **Brown, Percy E.**, Media for the quantitative estimation of soil bacteria, p. 447.

Ottolenghi, D., Über die feinere Struktur der Hefen, p. 407.

Percival, John, Potato „Wart“ disease: the life history and cytology of Synchytrium endobioticum (Schilb.) Percl., p. 440.

Perotti, Renato, Über den chemischen Kreislauf der Phosphorsäure im Ackerboden p. 409.

Schmidt, Ernst, Willy, Zur Methodik von Infektionsversuchen an höheren Pflanzen, p. 426.

Schneider-Orelli, O., Beitrag zur Kenntnis der schweizerischen Weidenmelampsoren, p. 436.

Neue Literatur, p. 460.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klichees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Abgeschlossen am 9. Dezember 1909.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 25. No. 19|25.

Nachdruck verboten.

Bacterial content of the milk of individual animals.

[From the Bacteriological Laboratories of the University of Wisconsin, Madison, Wis.]

By **E. G. Hastings** and **Conrad Hoffmann.**

The presence of bacteria in the udder of the cow has been shown by direct bacteriological examination of the tissue from various parts of the mammary gland. That some bacterial growth takes place in the udder is also shown by the fact that milk drawn under such conditions as to exclude all other sources of bacteria, nearly always contains bacteria in greater or less numbers.

Ward[1]) states that the number may vary from 200 per cc. of the milk to 900 per cc., the average being about 500 per cc. A dairyman, no matter how careful he may be, cannot hope to produce milk with a lower germ content, as this represents the contamination coming from the interior of the udder. The rejection of the fore-milk, as practiced in many dairies, has no appreciable effect in reducing the germ content of the entire quantity of milk drawn at a milking.

Repeated examinations of the milk of an animal have shown that the same organisms may persist in the udder for years. Ward cites an instance in which an organism indistinguishable from Streptococcus pyogenes was found in the udder of an animal during a period of two and a half years.

The supposition has also been expressed that not only may the same organisms persist in the udder for long periods, but also that they may be found in very considerable numbers. Statements have further been made that in those dairies, where an attempt is made to produce milk of the lowest possible bacterial content, attention should be paid to the bacterial content of the udders of the individual animals. Esten[2]) says, „The bacterial content of the udder of a cow is an important factor and one that determines the value of a cow in producing healthful market milk.“ As far as the writers are aware, no data have been published that would form a basis for such statements, as mentioned above.

In connection with other work, a large number of determinations of the germ content of the milk of individual animals of the University herd have been made. The results obtained with a number of animals are worthy of especial mention.

Bacteriological methods employed. The method used to determine the number of bacteria in the various samples was to prepare plate cultures of the milk soon after it was drawn from the cow. The culture medium employed was agar having an acidity of 1 per cent (Massachusetts scale) and containing 1 per cent of lactose. The plates were counted after 48 hours incubation at 37° C. The methods employed are identical with those used in the United States for the examination of many certified milks. The samples of milks were drawn under such conditions as to exclude, in large part, contamination from all external sources.

---

[1]) **Pure milk and the public health, p. 4.**

[2]) **Bull. 51, Storrs Expt. Sta. Stous, Conn.**

Results obtained. Two animals were found in the herd whose milk constantly contained large numbers of bacteria. The data collected in the case of these two animals are presented in this paper, together with the results obtained from the examinations of the milk of a third animal, whose milk constantly showed small numbers of bacteria. It will be noted from the tables presented that many of the samples from these animals were taken on the same days and were thus exposed to the same external sources of contamination. The samples were also plated on the same medium. No doubt can thus remain concerning the original source of the bacteria found in the samples.

In table I are presented the data obtained from the examination of the milk of Brownie. The figures from December 10, 1906, to March 28, 1907 inclusive, refer to one lactation period, the remainder to another, as the animal calved on August 13, 1907.

During the entire period the animal was apparently healthy and did not suffer from any attack of garget, which might have been accompanied by a high germ content. The only abnormality of the animal was a constant leaking of the milk from one hind quarter. Various workers have expressed the idea that such animals show a high germ content in the milk from the leaky quarters. Accordingly a number of determinations of the bacterial content of the milk from the different quarters of the udder of this animal were made, but no particular or constant difference could be detected between the leaking and non-leaking quarters.

The samples, from December 10, 1906, to October 20, 1907, were taken from the pail at the end of the milking, and represent the entire amount of milk drawn. The remainder were taken at the middle of the milking by drawing a few streams from each teat into a sterile flask.

The period covered by these examinations was 15 months, and included portions of two lactation periods. But 11 of the 61 samples examined contained less than 10,000 bacteria per cc. Thus were above the standard set for certified milk. The average of all determinations was 30,700 per cc.

The organism, which, in the major part of the samples, comprised 90 per cent or over of the total germ content was a streptococcus, very similar to Streptococcus pyogenes in morphology, as well as in its bio-chemical reactions. The animal had no recent history of garget, no attack having been noted in the two lactation periods included in the interval during which the examinations were made, so that this unusually high germ content must be regarded as a normal condition.

In table II are given the results obtained from the examination of the milk of Dorine, an animal which so far as was known had had no attack of garget and was normal in every respect. The observations, which extended over 9 months, refer to a single lactation period. This animal was milked during a portion of the time by the milking machine. The samples in all cases represent the entire amount of milk drawn at each particular milking.

Of the 33 determinations made, but five fall below 10,000 bacteria per cc. Excluding the two determinations of February 11, and March 22, which were exceedingly high, the average germ content per cc. is 38,800 or considerably in excess of the animal previously noted. The high germ content was due almost wholly to the large numbers of a streptococcus, similar if not identical with that found in the milk of Brownie.

Table I. Bacterial content of the milk of Brownie.

Date	Bacteria per cc.	Date	Bacteria per cc.
Dec. 10, 1906	14.500	Sept. 26, 1907	13.800
„ 11, 1906	19.900	Oct. 1, 1907	18.800
„ 12, 1906	8.600	„ 2, 1907	5.400
„ 13, 1906	15.100	„ 3, 1907	35.700
„ 14, 1906	25.400	„ 20, 1907	64.000
Jan. 6, 1907	23.300	„ 22, 1907	66.700
„ 7, 1907	11.500	„ 23, 1907	11.900
„ 8, 1907	5.200	„ 24, 1907	305.000
„ 14, 1907	13.400	„ 25, 1907	34.300
„ 16, 1907	4.100	„ 28, 1907	48.100
		„ 29, 1907	23.300
„ 17, 1907	11.000	„ 30, 1907	12.900
		Nov. 1, 1907	41.900
„ 20, 1907	23.200	„ 5, 1907	10.900
		„ 13, 1907	18.200
„ 21, 1907	18.800	„ 24, 1907	108.000
		„ 29, 1907	56.000
„ 22, 1907	100.700	Dec. 2, 1907	12.000
		„ 6, 1907	15.000
Feb. 7, 1907	4.200	„ 19, 1907	13.000
„ 12, 1907	36.000	„ 21, 1907	13.500
March 5, 1907	2.000	Jan. 6, 1908	4.500
		„ 8, 1908	7.000
„ 20, 1907	28.000	„ 11, 1908	36.000
		„ 13, 1908	34.000
„ 22, 1907	1.700	„ 16, 1908	36.000
		„ 17, 1908	10.000
„ 27, 1907	14.500	„ 18, 1908	66.000
		„ 23, 1908	45.000
„ 28, 1907	59.000	„ 24, 1908	7.000
Sept. 17, 1907	14.000	„ 31, 1908	9.000
		Feb. 3, 1908	72.000
		„ 27, 1908	15.000
„ 18, 1907	14.100	„ 29, 1908	87.000
„ 19, 1907	23.100		
„ 21, 1907	16.100		
„ 24, 1907	12.300		
„ 25, 1907	16.000		

Table II. Bacterial content of the milk of Dorine.

Date	Bacteria per cc.	Date	Bacteria per cc.
Feb. 11, 1907	3.500.000	Sept. 21, 1907	27.700
„ 13, 1907	3.100	„ 24, 1907	5.900
„ 18, 1907	33.000	„ 25, 1907	16.400
March 18, 1907	70.000	„ 26, 1907	33.300
„ 22, 1907	1.370.000	Oct. 1, 1907	14.700
„ 26, 1907	130.000	„ 2, 1907	7.700
„ 28, 1907	130.000	„ 3, 1907	5.900
Aug. 16, 1907	56.500	„ 22, 1907	154.000
„ 21, 1907	126.000	„ 23, 1907	137.000
„ 27, 1907	26.300	„ 24, 1907	35.600
„ 30, 1907	65.200	„ 25, 1907	24.700
Sept. 4, 1907	2.500	„ 28, 1907	55.700
„ 5, 1907	21.800	„ 29, 1907	50.300
„ 17, 1907	59.000	„ 30, 1907	43.400
„ 18, 1907	11.300	Nov. 1, 1907	27.800
„ 19, 1907	14.120	„ 5, 1907	36.300
„ 20, 1907	14.600		

The data collected from the examination of the milk of a third animal is given in table III. This animal was perfectly normal in all respects. The observations were all included in a single lactation period. It will be noted that the time covered is much the same as in the case of the other animals. The samples previous to March 2, 1908, were of the entire milk drawn at a single milking. The remainder were taken at the middle of the milking in a sterile flask.

Table III. **Bacterial content of the milk of Merney.**

Date	Bacteria per cc.	Date	Bacteria per cc.
Dec. 14, 1906	2.480	Nov. 1, 1907	2.810
„ 18, 1906	1.080	„ 5, 1907	290
„ 19, 1906	1.320	„ 13, 1907	4.250
Jan. 6, 1907	110	March 2, 1908	170
Sept. 20, 1907	1.700	„ 6, 1908	70
„ 21, 1907	170	„ 12, 1908	100
Oct. 3, 1907	270	„ 14, 1908	50
„ 22, 1907	110	„ 20, 1908	150
„ 23, 1907	180	„ 26, 1908	1.080
„ 24, 1907	160	„ 28, 1908	130
„ 25, 1907	310	April 3, 1908	130
„ 28, 1907	2.900	„ 4, 1908	350
„ 29, 1907	420	„ 11, 1908	80
„ 30, 1907	1.000		

Of the 27 determinations made, not one exceeded 5000 bacteria per cc. the average of all analyses being but 800 bacteria per cc., as compared to 38,800 in the case of Dorine, and 30,700 for the milk drawn from Brownie.

A large number of determinations were made of the milk of the other animals in the herd. None of 30 other animals approximate the figures given for Dorine and Brownie. There is good reason to believe that the average bacterial content of the milk as it is drawn from the udders of healthy cows is not over 1,000 per cc. If this be taken as a basis for calculation and one such animal as Dorine be found for each 16 cows, the proportion found in the University herd, the average bacterial content of the milk will be trebled, due to the presence of this one animal among the 16.

The presence of such animals in the herd is probably of little practical significance in ordinary dairying. In case of dairies, attempting to produce milk with the lowest possible germ content, certified and sanitary dairies, such animals will be of importance since they will raise markedly the average bacterial content of the milk of the herd, as it is determined by the plate cultures of the bacteriologist. It would thus seem that attention may well be paid by the managers of certified dairies to the bacterial content of the udders of cows purchased for the dairy.

Types of bacteria found. In the case of two animals, Brownie and Dorine, the high number of bacteria was due largely to the presence of of a single kind of organism, a streptococcus, which would be called Streptococcus pyogenes when found in the microscopical examination of milk sediments. Its detection in the milk of a single cow might lead to the demand that the milk of such an animal be rejected. As far as could be determined the milk of the animals in question was normal, and to be considered as healthful milk. The same organism has also been found in the milk of other animals, at times in large numbers, although no evidence of udder trouble could be detected. Rühms [1]) has fed milk containing streptococci to various young animals. No injurious effect was to be noted. It would not seem justifiable to call all bacteria that appear in milk sediments in chains of cocci, pyogenic organisms.

In the case of the third animal, Merney, the bacterial content of the milk was almost exclusively made up of yellow and white cocci. These types of bacteria have been found by numerous investigators to be the predominating ones in the udders of cows. They make up the major part of the germ content of fresh milk and of milk drawn under very clean conditions. If the analyst finds them predominating on his plates, he may be certain the milk, if it is of any age, was drawn under sanitary conditions, for otherwise the numbers of bacteria coming from other sources will be so large that the udder forms will be difficult or impossible to find, as for instance in ordinary market milk.

Leucocyte content of milk. During the interval covered by the examinations detailed, frequent determinations of the leucocyte content of the milk of the individual animals were made. In Table IV is presented a summary of the leucocyte content of the milk of the three animals.

Table IV. Leucocyte content of milk.

	No. of tests	Leucocytes per cc.		Per cent of samples examined that fell within following limits.				
		Minimum number	Maximum number	50.000 or below	50.000 to 100.000	100.000 to 500.000	500.000 to 1.000.000	1.000.000 or above.
Dorine	63	126.200	1.966.000	0	0	38	49	13
Brownie	66	122.500	1.781.000	0	0	64	30	6
Merney	11	30.400	288.000	36	18	46	0	0

It will be seen that the animals, whose milk contained large numbers of bacteria, were the ones showing an abnormally high leucocyte content in the milk. A long series of determinations of the leucocyte content of the milk of each animal in the herd was made[2]). Brownie and Dorine were the animals whose milk showed the highest number, while Merney was among those whose milk was low in leucocytes.

A careful physical examination of the udders of the animals was made by the Station Veterinarian. In the case of Brownie there was a slight induration in one quarter of the udder, which may have been caused by an attack of garget. The udders of the other two animals were normal. As far as is known these animals have never had any udder trouble.

Whether the high number of leucocytes is due to the presence in the udder of large numbers of organisms resembling Streptococcus pyogenes is a question that cannot be answered at the present time. It is possible that Brownie and Dorine have had, at some previous time, an attack of garget caused by pyogenic bacteria, and that the organisms persisted after recovery. In other words, cows are possibly able to become „carriers of bacteria“ after attacks of contagious garget, just as human beings become „carriers“ of typhoid.

---

[1]) Abstract, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. 1909. p. 136.

[2]) 24th Rpt. Wis. Sta., p. 231.

Summary.

The same organisms may not only persist in the udder of a cow for long periods, but may be present constantly in large numbers.

In sanitary dairies the normal content of the udders of the individual animals may well be taken into account.

Nachdruck verboten.

Über die Bakterienflora einiger Bodenportionen aus dem fernen Norden (Obdorsk und Halbinsel Jamal).

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station bei der Kaiserlich russischen Akklimatisations-Gesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Von **S. A. Severin** in Moskau.

Im Jahre 1908 wurde von der Kaiserlich Russischen Geographischen Gesellschaft eine wissenschaftliche Expedition unter der Führung des Zoologen Schitkoff nach der Halbinsel Jamal, oder anders Samojeden-Halbinsel genannt, welche bekanntermaßen zwischen dem Karischen Meer und dem obischen Busen sich ausbreitet, ausgesandt. Unter Benutzung dieser Gelegenheit habe ich mich an Schitkoff mit der Bitte gewandt, für die bakteriologisch-agronomische Station einige Bodenproben mitzubringen, um die Bakterienflora von Böden des so fernen Nordens zu erforschen. Der Liebenswürdigkeit des Herrn Schitkoff verdanken wir 6 Proben, welche ich bakteriologisch analysiert habe, und die Resultate dieser Analyse sollen der Gegenstand dieser Mitteilung sein.

Die Böden wurden unter allen für eine bakteriologische Untersuchung notwendigen Kautelen entnommen. Glasgefäße mit eingeschliffenen Stopfen und außerdem noch mit Watte geschützt, wurden zuvor sterilisiert und so der Expedition mitgegeben; an Ort und Stelle wurden auch alle Kautelen eingehalten, d. h. die Proben wurden mit ausgeglühten Instrumenten geholt, die Deckelstopfen sorgfältig mit Paraffin eingeschmolzen usw. Die Gefäße mit den Böden wurden der Station intakt, mit Ausnahme des 6. Bodens, wo das Glas zerbrochen war, zugestellt. Die Ortschaften, wo die Böden geholt wurden, und diese selbst erhalten von Schitkoff eine nachstehende Charakteristik. Entnommen wurden die Böden im Juni und Juli 1908.

1. Boden. Jamal, Flußthal des Jurjubey. Hohe Tundra (Untergrund) unmittelbar unter der Vegetationsschicht, 2½ bis 9 cm tief. Vegetation — Polarbirke (Betula nana), Moosarten, Schilfe, einige wenige Blütenpflanzen.

2. Boden. Laida (Kesselthal) des Jurjubay, unterhalb der Vegetationsschicht, $4^1/_2$ cm tief. Vegetation vornehmlich Schilfe, deren Wurzeln tief gehen.

3. Boden. Eingefrorener Boden (49 cm tief) am See Jarrato, an der Grenze der Tundra und des Kesselthales des Sees (etwas südlicher von diesen Seen erscheinen die ersten Eschensträucher.)

4. Boden. Straße in Obdorsk.

5. Boden. Gemüsegarten in Obdorsk (Kartoffel).

6. Boden. Tundra bei Obdorsk. Spärliche Gras- und Moosvegetation.

Zur Ergänzung dieser Charakteristik kann ich meinerseits, auf Grund des Aussehens und der hygrometrischen Bestimmung der zugesandten Bodenproben beim Aufmachen der Gläser, unmittelbar vor der Analyse, noch auf folgende Merkmale hinweisen:

Der Boden No. 1 hatte 26,9 Proz. Feuchtigkeit und repräsentierte fast reinen Sand, vielleicht mit ganz unbedeutendem Gehalt an Lehmteilen und wenigen Pflanzenwurzeln.

Der Boden No. 2 mit 22,7 Proz. Feuchtigkeit war ein Supes mit einem bedeutenden Quantum von Wurzelresten.

Der Boden No. 3 mit 26,8 Proz. Feuchtigkeit — fast reiner Sand mit geringer Beimischung von Lehmteilen, ganz ohne organische Substanz.

Der Boden No. 4 mit 2,2 Proz. Feuchtigkeit war ein leichter Mergel ohne jegliche Beimischung von organischer Substanz.

Der Boden No. 5 mit 18,8 Proz. Feuchtigkeit war ein leichter Mergel mit großem Gehalt an organischer Substanz in Gestalt halbverfaulter Blätter, Wurzeln usw. Von allen aufgezählten Böden war dieser der einzige mehr oder weniger dunkel gefärbte, alle übrigen waren schwach gelb, oder leicht grau, wie feuchter Sand, gefärbt.

Der Boden No. 6 (Glas zerschlagen) war ein Supes ohne organische Substanz, Feuchtigkeitsgrad 0,7 Proz.

Derartig sind die Daten zur Charakteristik der zugesandten Böden. Die bakteriologische Analyse wurde etwa 6 Monate nach Entnahme der Böden ausgeführt. Letzteren Umstand muß man bei der Deutung der Ergebnisse der Analyse im Auge behalten. Doch diese Daten in Abhängigkeit von dem angegebenen Termin der Entnahme und der Ausführung der Analysen, irgendwie zu korrigieren, ist wohl kaum möglich; sogar im allgemeinen zu sagen, daß die Zifferresultate der Analyse vergrößert oder verringert werden müssen, ist meines Erachtens sehr schwer. Innerhalb 6 Monaten konnte die Bakterienflora der Böden, in Abhängigkeit von Temperatur, Feuchtigkeitsgrad usw. gleichzeitig für die einen Mikrobengruppen eine Vergrößerung, für die andere eine Verringerung der Individuenzahl erleiden, und welches das Endresultat für die Gesamtflora war, ist natürlich unmöglich vorauszusagen. Was nun die Analyse selbst anbelangt, so benutzte ich, da ich beim Studium der Bakterienflora der Böden fast ausschließlich die quantitative Seite im Auge hatte, die gewöhnliche Plattenkulturen-Methode, indem ich die Keimzahl im Boden nach den auf den Platten ausgewachsenen Kolonien berechnete. Diese Zahlen wurden noch ergänzt durch Angabe über Anwesenheit einer größeren oder geringeren Anzahl verflüssigender und nicht verflüssigender Kolonien, Schimmelpilze und über das Vermögen des betreffenden Bodens, einen Nitrifikations- und Denitrifikationsprozeß hervorzurufen, oder nicht.

Die bisherigen Zählungsmethoden der Bodenflora liefern noch lange keine der Wirklichkeit entsprechenden Resultate. Sollte man den Versuch machen, auf dem Wege der Kolonienzählung nach der gewöhnlichen Plattenkultur-Methode, um deren Ausarbeitung sich besonders Hiltner, Störmer und Thiele verdient gemacht haben, die Gesamtzahl von Bakterien keimen in dem betreffenden Boden zu bestimmen, so würde man hier mit sehr wesentlichen Hindernissen zu tun haben. Vor allem ist das am meisten ernste Hindernis das Fehlen eines derartigen universellen festen Nährmediums, auf welchem alle möglichen Mikroben wachsen würden. Das ist der Grund, daß stets, welches von den existierenden Substraten man auch zur Analyse verwendet, sich erweisen wird, daß ein bedeutender Teil der Bodenflora auf jenen nicht wachsen wird. Gewöhnlich nimmt man zur Analyse Fleischpepton-Agar und Fleischpepton-Gelatine, doch die wichtigsten und zahlreichsten Gruppen der Bodenmikroben, wie z. B. die Stickstoffbindenden, nitrifizierenden u. a., entwickeln sich bekanntermaßen auf diesen Substraten ganz und gar nicht. Ferner werden mit Hilfe dieser Methode bloß die Aëroben und fakultativen Anaëroben gezählt werden, aber die ganze im betreffenden Boden vorhandene Gruppe von obligaten Anaëroben wird durchgelassen werden. Wollte man nun eine ergänzende und dabei kompliziertere Anaëroben-Analyse zur Auszählung dieser letzten Gruppe unternehmen, so werden hier einer richtigen Berechnung die fakultativen Mikroben im Wege stehen, welche sowohl auf aëroben, als auch auf anaëroben Platten wachsen werden, und auf diese Weise werden ein und dieselben Keime zweimal mitgezählt werden. Sodann ist man bei der Plattenmethode gezwungen, stets Verdünnungen vorzunehmen und gleichzeitig die Bakterienkeime von den Bodenteilchen, auf denen sie sitzen, abzuspülen, und es ist sehr natürlich, daß man niemals sicher sein kann, und offenbar läßt sich das auch niemals erreichen, daß alle auf den festen Bodenteilchen sitzenden Keime in den wässerigen Auszug übergehen, und somit werden also die nicht abgespülten Keime nicht eingerechnet sein, oder falls die Bodenteilchen mit den daraufsitzenden, nicht abgespülten Keimen in das Nährmedium übergehen, so werden auf den Platten, ringsum solcher Teilchen, konfluierende Kolonien aus mehreren Keimen sich bilden, was wiederum eine Fehlerquelle beim Zählen abgeben wird. Weiter wird die Exaktheit der Ergebnisse der quantitativen Analyse durch das Verdünnungssystem an und für sich durch Zugrundegehen einzelner Keime im Verlaufe der Analyse usw. beeinträchtigt. Alles dieses zusammen verringert bekanntermaßen die Gesamtzahl der Bodenflora bedeutend gegenüber der Wirklichkeit.

Schließlich darf man jene Fehlerquelle nicht vergessen, denen man unmittelbar beim Zählen der Kolonien auf den Platten begegnet und welche nach der einen oder anderen Richtung zweiffellos einen bedeutenden Einfluß auf das Endresultat ausüben. Ist es behufs größerer Exaktheit wünschenswert, große Verdünnungen zu meiden und eben dadurch möglichst dicht mit Kolonien besäte Platten zu erhalten, so stehen dem andererseits bei so dichten Aussaaten zwei Umstände im Wege; bei Aussaat von Agar bilden sich in der Regel die Oberfläche überziehende Membranen, dank welchen es in einzelnen Partien ganz unmöglich ist, die Kolonien zu zählen, oder bei dichter Lagerung der Kolonien, falls diese unregelmäßige Formen haben, läßt sich häufig nicht entscheiden, ob diese Form von einem oder von mehreren Keimen stammt; letzterer Umstand hat die gleiche Bedeutung auch für Gelatineplatten. Besonders schwierig fällt es gewöhnlich, sich zu orientieren beim Zählen von jungen, eben zur Entwicklung gekommenen Schimmelpilzkolonien, wenn diese bereits zusammenkommen und mit den Enden der Mycelienfäden sich untereinander verschlingen; außerdem ist bei so dichten Aussaaten auf Gelatineplatten, bei Vorhandensein einer großen Anzahl energisch verflüssigender Kolonien häufig bereits nach zwei Tagen bei Zimmertemperatur die ganze Oberfläche der Platte verflüssigt, und ist es unmöglich, zu zählen. Macht man nun in Anbetracht dieser Umstände starke Verdünnungen, so stößt man, abgesehen davon, daß dadurch überhaupt die Exaktheit der Ergebnisse der Methode selbst leidet, auch bei der Technik der Kolonienzählung auf seicht besäten Platten auf Schwierigkeiten, welche das Endresultat beeinflussen. Durchschnittsziffern, gewonnen durch Auszählung der Kolonienzahl auf irgend einer Einheit der Quadratfläche und nachfolgender Berechnung auf die ganze Fläche der Tabaksdose, wie das bei dichten Aussaaten geschieht, sind hier bereits nicht verwendbar; behufs größerer Exaktheit muß man unmittelbar sämtliche auf betreffender Platte ausgewachsene Kolonien zählen. Es ist leicht verständlich, daß man eine derartige Zählung bei einigermaßen stärkerer Vergrößerung unter dem Mikroskop nicht ausführen kann; deswegen muß man mit Hilfe der ein größeres Gesichtsfeld umfassenden Lupe zählen und folglich bei sehr geringer Vergrößerung. Aber bei solcher Vergrößerung werden nicht selten die jüngsten Kolonien, welche unter der Lupe kaum bemerkbar sind, übersehen oder leicht mit irgend welchen in die Gelatine geratenden Fremdkörperchen oder sogar mit kleinen Luftbläschen usw. verwechselt, welche in diesem Falle als Kolonien gezählt werden, während doch bei größeren Verdünnungen ein jedes Zehntel mitgezählter oder übersehener Kolonien schließlich, bei Berechnung der Gesamtzahl pro 1 g Erde, eine sehr ansehnliche Summe ergeben wird, welche die Endziffer der Gesamtzahl der Bakterienflora des betreffenden Bodens sehr merklich modifizieren kann.

Schließlich erscheint bei dieser Methode die Frage sehr wichtig, in welchem Zeitraum nach der Aussaat man die Zählung der Kolonien unternehmen soll. Es ist sehr natürlich, daß, je später man diese Zählung vornimmt, desto richtiger das Resultat sein wird, denn innerhalb dieses längeren Zeitraumes werden alle langsam wachsende Mikroben Kolonien gebildet haben, anderenfalls werden diese der Zählung entgehen. Doch erstens ist es recht schwierig, die Weite dieses Zeitraumes festzustellen, aber die Hauptsache ist, daß dieser wünschenswerten Zeitverlängerung wiederum im Wege stehen werden, — auf Gelatine — die verflüssigenden Mikroben, und auf Agar die membranbildenden, oder das Austrocknen des Nährmediums usw. Mit einem Worte, alle obengenannten Umstände modifizieren in bedeutendem Maße die richtige Vorstellung über die Gesamtzahl der Bakterienflora des Bodens und vornehmlich im Sinne einer Verminderung.

Wie sehr überhaupt die Plattenkultur-Methode mit ihren sehr schwankenden Ziffern fehlerhaft ist, das läßt sich teilweise aus den unten angeführten Daten unserer Analysen ersehen, wo die Zahlen nicht selten nicht nur bei zwei parallel ausgeführten Analysen eines und desselben Bodens, sondern sogar bei verschiedenen Verdünnungen ein und derselben Analyse bedeutend von einander verschieden sind. Bloß durch arithmetische Mittel aus den Daten mehrerer Aussaaten kann man erst eine gewisse Vorstellung sich über die Gesamtzahl der Bodenflora in jenem Sinne schaffen, von dem die ganze Zeit die Rede ist.

Die alte Fränkelsche Plattenkulturen-Methode birgt, bei unmittelbarer Durchmischung eines bestimmten Bodenvolumens mit dem Nährmedium und nachfolgender Zubereitung von Platten nach Esmarch mit den von Reimers und Eberbach eingeführten Verbesserungen natürlich dieselben Fehlerquellen in sich und ist noch weniger bequem, besonders bei Untersuchung von Böden mit reichhaltiger Bakterienflora. Jedoch noch weniger exakt ist die Adametzsche Methode direkter Keimzählung in Bodenauszügen, oder die Miquelsche Methode, welche die Verdünnung so weit führt, daß die letzten Gefäße mit der Nährlösung bloß von einem Keim infiziert würden, um dann danach die Gesamtziffer der Bodenflora zu berechnen. Eine solche Zählung ergibt noch geringere Zahlen, als die Platten-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

kulturen-Methode. Nicht entschieden wird die Frage auch durch die verbesserte Methode von Hiltner und Störmer, welche ebenfalls eine lange Reihe von Verdünnungen bis zu einem Keim, im Verein mit der Methode von Ellektivkulturen, einführt. Diese Methode charakterisiert in einem gewissen Maße die Gesamtzahl der Bodenflora nach einigen bestimmten physiologischen Gruppen, doch eine wahre Vorstellung über die Gesamtzahl der Bodenflora zu geben, ist diese Methode auch nicht imstande. Andere bessere Methoden kennt die Bakteriologie einstweilen noch nicht.

Auf Grund alles Ausgesagten ist es sehr natürlich, daß auch die mit der gewöhnlichen Plattenkulturen-Methode gewonnenen Daten meiner Analysen bloß einen relativen Wert haben, aber nichtsdestoweniger hindert das natürlich nicht und erscheint bei weitem nicht ohne Nutzen, bei Abwesenheit vollkommener Methoden, die Böden wenigstens mit Hilfe dieser bedingten Zählungsmethode ihrer Bakterienflora zu charakterisieren. Verfahren wurde bei meinen Analysen folgendermaßen:

Es wurden von jedem untersuchten Boden je 2 Portionen zu je 1 g und eine dritte Portion von 50 g abgewogen, darauf die ersteren zwei mit je 100 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung vermischt und die dritte mit 50 ccm derselben Lösung, wonach im Laufe von 20 Minuten die Böden durchgeschüttelt und die Klümpchen zerdrückt wurden. Weiter wurde von den ersten zwei Portionen eine Verdünnung gemacht, wozu von diesen je 10 ccm Auszug mitsamt den aufgeschwemmten Teilchen in Kölbchen mit 90 ccm physiologischer Lösung gebracht wurden, und dieses Gemisch wurde wiederum 20 Minuten lang durchgeschüttelt. Bei der ersten Verdünnung sowohl, wie auch bei der zweiten, wurde von jeder Portion je 1 ccm Auszug zur Aussaat auf eine Fleischpepton-Agarplatte und eine Fleischpepton-Gelatineplatte entnommen. Die Agarplatten wurden bei 30°, die Gelatineplatten bei Zimmertemperatur gehalten. Auf diese Weise wurden für jeden Boden gleichzeitig 2 Analysen ausgeführt, jede bei $^1/_{100}$ und $^1/_{1000}$ Verdünnung, insgesamt 8 Tabaksdosen. Was das Gemisch von 50 g Boden mit 50 ccm physiologischer Lösung anbelangt, so wurde nach 20 Minuten langem Durchschütteln aus demselben je 1 ccm zur Impfung folgender Lösungen entnommen: Zur Entfaltung der Tätigkeit des Nitritbildners — Ammon. sulf. 2,0 g, Natr. chlor. 2,0, Kal. phosphor. 1,0, Magn. sulf. 0,5, Ferr. sulf. 0,4, Magn. carbon. 8,0, Aq. destill. 1000,0; für den Nitratbildner, — Natr. nitros. 1,0, Natr. carbon. 1,0, Kal. phosphor. 0,5, Natr. chlor. 0,5, Ferr. sulf. 0,4, Magn. sulf. 0,3, Aq. destill. 1000,0; für die Denitrifikationsmikroben — gewöhnliche Fleischpeptonbouillon mit 0,8 Proz. KNO_3. Von den ersteren zwei Lösungen wurden je 20 ccm genommen, Nitratbouillon 50 ccm. Die geimpften Substrate kamen in den Thermostaten bei 30° C für einen Monat; vermittels qualitativer Reaktionen wurde einmal wöchentlich im Substrat mit dem Schwefel-Ammoniaksalz das Erscheinen von HNO_2 und das Verschwinden der NH_3-Reaktion, in der Nitritlösung das Verschwinden der HNO_2-Reaktion und in der Nitratbouillon das Auftreten der HNO_2-Reaktion und das totale Schwinden der HNO_2- und HNO_3-Reaktion bestimmt.

Sämtliche geschilderte Prozeduren wurden natürlich unter allen Kautelen vor Verunreinigung ausgeführt. Die Auszählung der Kolonien wurde in der Mehrzahl der Fälle nach 3 Tagen vorgenommen, doch sobald derselben eine starke Verdünnung oder die Bildung von überziehender Membran hinderlich sein konnte, nach 2 Tagen. Bei $^1/_{100}$ Verdünnung wurde meistenteils ein Zählapparat benutzt und auf die Fläche der Tabaksdose berechnet, bei

$^1/_{1000}$ Verdünnung wurden unmittelbar alle Kolonien der betreffenden Tabaksdose gezählt und ausnahmsweise mit dem Zählapparat.

Das Resultat der Analyse war wie folgt:

Boden No. 1.

1. Portion auf Agar bei $^1/_{100}$ Verdünnung	4 500	Keime pro 1 g
1. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	43 000	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{100}$ „	13 100	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	58 000	„ „ 1 g
Das Mittel für Agarplatten	29 650	„ „ 1 g
1. Portion auf Gelatine bei $^1/_{100}$ Verdünnung	117 600	„ „ 1 g
1. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	236 000	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{100}$ „	103 000	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	172 000	„ „ 1 g
Das Mittel für Gelatineplatten	157 150	„ „ 1 g

Aus den angeführten Zahlen ist zu ersehen, daß auf Gelatine mehr als das Fünffache Bakterienkeime ausgewachsen sind, als auf Agar; unter den Kolonien gab es, wie hervorgehoben sei, eine große Anzahl verflüssigender, auch viele Schimmelpilzkolonien. Was die flüssigen Substrate anbelangt, so konnte man mit den oben angegebenen qualitativen Reaktionen keine Nitrifikationsprozesse konstatieren, die Denitrifikation blieb offenbar bei HNO_2 stehen, wenigstens wurde kein totales Verschwinden des Nitrates beobachtet, aber die Reaktion auf HNO_2 war eine starke.

Boden No. 2.

1. Portion auf Agar bei $^1/_{100}$ Verdünnung	125 800	Keime pro 1 g
1. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	29 000	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{100}$ „	103 000	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	77 000	„ „ 1 g
Das Mittel für Agarplatten	83 700	„ „ 1 g
1. Portion auf Gelatine bei $^1/_{100}$ Verdünnung	125 800	„ „ 1 g
1. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	163 000	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{100}$ „	106 900	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	119 000	„ „ 1 g
Das Mittel für Gelatineplatten	128 675	„ „ 1 g

Bei dieser Analyse hat die Gelatine ebenfalls eine größere Bakterienzahl pro 1 g Boden ergeben, als Agar, doch diese Zahl übertrifft weniger als zweimal die Keimzahl nach Anzeige der Agarplatten. Von Interesse ist die charakteristische Beschaffenheit der Bakterienflora dieses Bodens — vollständige Abwesenheit von Mikroben, welche die Gelatine verflüssigen; auf allen 4 Gelatineplatten gab es keine einzige verflüssigende Kolonie. Gleichwie bei der vorangehenden Analyse, wurde kein Nitrifikationsprozeß in den mineralischen Substraten konstatiert, in der Nitratbouillon erschien nach 14 Tagen eine starke HNO_2-Reaktion, doch zum totalen Verschwinden des Nitrats kam es nicht.

Boden No. 3.

1. Portion auf Agar bei $^1/_{100}$ Verdünnung	1 600	Keime pro 1 g
1. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	2 000	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{100}$ „	1 700	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	7 000	„ „ 1 g
Das Mittel für Agarplatten	3 075	„ „ 1 g
1. Portion auf Gelatine bei $^1/_{100}$ Verdünnung	12 400	„ „ 1 g
1. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	37 000	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{100}$ „	8 000	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	17 000	„ „ 1 g
Das Mittel für Gelatineplatten	18 600	„ „ 1 g

Die Gelatineplatten ergaben auch hier eine bedeutend größere Keimzahl — 6mal mehr, als auf Agar. Die Bakterienbevölkerung dieses Bodens ist so arm, daß die Auszählung unmittelbar, ohne Zählapparat, ausgeführt wurde. U. a. hatte dieser Boden beim Aufmachen des Gefäßes einen Schimmelgeruch, aber auf den Platten waren fast gar keine Schimmelpilzkolonien ausgewachsen. In den mineralischen Lösungen wurde kein Nitrifikationsprozeß konstatiert, das Auftreten von HNO_2 in der Nitratbouillon wurde bereits nach 3 Tagen verzeichnet, doch totale Nitratzerstörung gab es nicht.

Boden No. 4.

1. Portion auf Agar bei $^1/_{100}$ Verdünnung	5 100	Keime pro 1 g
1. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	22 000	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{100}$ „	7 900	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	53 000	„ „ 1 g
Das Mittel für Agarplatten	26 025	„ „ 1 g
1. Portion auf Gelatine bei $^1/_{100}$ Verdünnung	17 000	„ „ 1 g

Auf den übrigen Gelatine-Tabaksdosen konnte man keine Auszählung vornehmen, denn bereits nach 2 Tagen war die ganze Gelatine durchweg verflüssigt. Auf diese Weise unterschied sich dieser Boden, entgegen dem Boden No. 2, durch Anwesenheit einer großen Zahl und dabei energisch die Gelatine verflüssigender Mikroben in demselben. In den mineralischen Lösungen sei folgendes verzeichnet: In der Lösung mit Ammon. sulf. wurde nach einem Monat ein vollkommenes Fehlen der Ammoniakreaktion festgestellt, doch nebenbei gab es auch keine Bildung von HNO_2; es ist klar, daß das schwefelsaure Ammoniaksalz, in kohlensaures übergehend, allmählich verdunstete; jedoch wurde in der Nitritlösung nach einem Monat eine vollständige Oxydation von HNO_2 zu HNO_3 beobachtet. Durch nochmalige Überimpfungen gelang es auch nicht, einen Nitrifikationsprozeß in dem Ammoniaksalz herzurufen, aber die Oxydation von HNO_2 zu HNO_3 ging sehr energisch vor sich. In der Nitratbouillon kam es zu totaler Zerstörung des Nitrats nicht, aber HNO_2 wurde gebildet.

Boden No. 5.

1. Portion auf Agar bei $^1/_{100}$ Verdünnung	366 900	Keime pro 1 g
1. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	3 468 000	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{100}$ „	270 200	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	765 000	„ „ 1 g
Das Mittel für Agarplatten	1 210 525	„ „ 1 g
1. Portion auf Gelatine bei $^1/_{100}$ Verdünnung	446 300	„ „ 1 g
1. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	1 925 000	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{100}$ „	572 100	„ „ 1 g
2. „ „ „ „ $^1/_{1000}$ „	936 000	„ „ 1 g
Das Mittel für Gelatineplatten	969 850	„ „ 1 g

Somit haben bei diesem Boden, im Gegensatz zu den vorangehenden, die Agarplatten eine größere Keimzahl aufgewiesen, wenn auch nicht viel mehr. Die Analyse zeigte eine große Anzahl Gelatine verflüssigender Mikroben, sowie auch viele Schimmelpilze. In den flüssigen Substraten erzeugte dieser Boden sowohl einen Nitrifikations-, als auch einen Denitrifikationsprozeß mit totaler Nitratzerstörung. In dem Substrat mit dem schwefelsauren Ammoniaksalz wurde das erste Auftreten von HNO_2 nach 13 Tagen konstatiert; nach 20 Tagen war bereits alles Ammoniaksalz oxydiert, nach derselben Frist war alles Nitrit in der Nitratbouillon zu HNO_3 oxydiert. Nach 6 Tagen erschien in der Nitratbouillon die Reaktion auf HNO_2, nach 20 Tagen war bereits alles Nitrit und Nitrat zerstört, Schaumbildung wurde in der Bouillon nicht beobachtet.

Boden No. 6.

1. Portion auf Agar bei $^{1}/_{100}$ Verdünnung	100	Keime	pro	1 g
1. „ „ „ „ $^{1}/_{1000}$ „	1 000	„	„	1 g
2. „ „ „ „ $^{1}/_{100}$ „	3 600	„	„	1 g
2. „ „ „ „ $^{1}/_{1000}$ „	9 000	„	„	1 g
Das Mittel für Agarplatten	3 425	„	„	1 g
1. Portion auf Gelatine bei $^{1}/_{100}$ Verdünnung	1 200	„	„	1 g
1. „ „ „ „ $^{1}/_{1000}$ „	4 000	„	„	1 g
2. „ „ „ „ $^{1}/_{100}$ „	1 200	„	„	1 g
2. „ „ „ „ $^{1}/_{1000}$ „	0	„	„	1 g
Das Mittel für Gelatineplatten	1 600	„	„	1 g

Dieser Boden ergab auch gleich dem vorigen auf den Agarplatten eine größere Kolonienzahl, als auf den Gelatineplatten. Die Bakterienflora des zuletzt untersuchten Bodens ist so minimal, daß bei den vorgenommenen Verdünnungen einzelne Platten bloß eine Kolonie aufwiesen und eine Platte sogar ganz steril blieb. Eine Nitrifikation wurde in den mineralischen Lösungen nicht konstatiert, in der Nitratbouillon trat die Reaktion auf HNO_2 bereits nach 7 Tagen auf, doch totale Zerstörung des Nitrats gab es nicht.

Derartig sind die Daten der vorgenommenen Analysen. Urteilt man nach den von den Agarplatten erhaltenen Zahlen, so wird der an Bakterienbevölkerung ärmste der Boden No. 3 sein, die übrigen Böden kommen in folgender steigender Reihenfolge: Boden No. 6, 4, 1, 2 und 5; verteilt man nach den Gelatineplatten, so verteilen sich die Böden so: Boden No. 6, 4, 3, 2, 1 und 5. Mit anderen Worten, mit Ausnahme des Bodens No. 5, welcher hier und da den höchsten Platz nach den Daten der Agarplatten sowohl, wie nach denen der Gelatineplatten einnimmt, haben alle andere Böden nicht so übereinstimmende Plätze in beiden Reihenfolgen. Doch wenn sich keine so volle Übereinstimmung zwischen den Daten der Analysen auf Agar- und Gelatineplatten für alle Böden gesondert feststellen läßt, so fällt es nicht schwer, eine Übereinstimmung zwischen 2 Gruppen der geprüften Böden zu ermitteln. Und zwar gehören in gleicher Weise sowohl nach den Daten der Agarplatten, als auch nach denen der Gelatineplatten in die erste Gruppe die Böden No. 3, 4 und 6 als an Bakterienbevölkerung außerordentlich arme, in die zweite Gruppe die übrigen Böden No. 1, 2 und 5, welche bereits durch eine bedeutend reichere Bevölkerung charakterisiert sind (bloß der Boden No. 1 sondert sich in dieser Gruppierung nach den Daten der Agarplatten nicht scharf ab).

Es ist von Interesse, zu verzeichnen, daß diese Gruppierung in Übereinstimmung steht damit, ob die Böden organische Substanzen enthielten, oder nicht. So wurde bei der Charakteristik der Böden auf vollständige Abwesenheit organischer Substanzen in den Böden 3, 4 und 6 hingewiesen, und eben diese Böden erwiesen sich als die an Bakterienbevölkerung ärmsten, hingegen erwiesen sich die Böden 1, 2 und 5, in denen das Vorhandensein organischer Substanzen konstatiert worden war, als an Bakterien reichere. Noch mehr, bei dieser Gruppe sprechen Aussaaten sowohl auf Agar- als auch auf Gelatineplatten übereinstimmend dafür, daß, je mehr organische Substanz im Boden war, desto höher auch seine Bakterienflora war. So wurde in dem Boden No. 1 bloß eine geringe Menge von Wurzelresten verzeichnet, in dem Boden No. 2 ist von diesen bedeutend mehr verzeichnet, und noch mehr organische Substanz gab es in dem Boden No. 5, in gleicher ansteigender Reihenfolge verteilen sich auch die Böden nach der Quantität ihrer Bakterienflora.

Mit anderen Worten, auch hier in den Böden des fernen Nordens steht die Quantität ihrer Bakterienbevölkerung in direkter Abhängigkeit von dem Gehalt organischer Substanz im Boden; je reicher der Boden an letzterer ist, desto zahlreicher ist auch sein Keimgehalt. Wollen wir nun diese Böden nicht im Vergleich zu einander, sondern gegenüber dem, was nach Literaturangaben über die Bakterienflora von Böden anderer Breiten bekannt ist, charakterisieren, so werden wir bei diesem Vergleich wenig Spezifisches für die Böden des fernen Nordens ermitteln. Die schwedische Südpolexpedition von 1901—1904 gibt für den Boden der Insel Snonbhill in der kalten Jahreszeit 7000 Keime pro 1 g an, andererseits sind die Zahlen Maggioras für Sandhügel in der Nähe von Turin pro 1 g die gleichen und noch geringer; derselbe Autor gibt für einen jungfräulichen Boden wiederum nicht hohe Zahlen an, und zwar 16 000—252 000 Keime, pro 1 g. Beumer fand in Dünensand 1000 Keime pro 1 g usw. Die Böden unserer Breitengrade, nicht des extremen Nordens und Südens, sondern an organischer Substanz reichere und insbesondere bestellte und mit Dünger versetzte enthalten nach den Daten zahlreicher Untersuchungen bereits eine bedeutend reichhaltigere Bakterienflora, Hunderttausende bis zu Zehntelmillionon Individuen pro 1 g. U. a. wurde bei unserer Analyse der Böden von der Halbinsel Jamal vergleichsweise eine Analyse eines im Laboratorium in einer Kiste mehrere Monate liegenden Moskauer Gartenbodens vorgenommen; das Resultat war folgendes: Auf Gelatineplatten ergab der Boden pro 1 g 1 024 800 Keime, auf Agarplatten 851 600.

Demnach bieten die Böden von der Halbinsel Jamal hinsichtlich der Quantität ihrer Bakterienbevölkerung nichts außerordentliches. Die wilden, jungfräulichen Böden mit außerordentlich dürftiger Vegetation, wie z. B. die Böden No. 3, 4 und 6, sind sehr arm an Bakterienbevölkerung, aber ebenso arm daran werden auch die Böden aller anderen geographischen Breitengrade sein, falls sie in wildem Zustande sich befinden, arm an Nährsubstanzen, zu feucht oder zu trocken sind usw. Die Böden No. 1 und 2 sind ebenfalls nicht reich an Bakterien, sie sind auch nicht kultiviert und an Nährsubstanzen arm, und doch wird ihre Bakterienflora auf der nämlichen Halbinsel, bloß dank dem Vorhandensein einer geringen Menge organischer Substanzen in Gestalt von Wurzelresten, bedeutend reichhaltiger, und es unterliegt keinem Zweifel, daß man in anderen geographischen Breitengraden eine Menge von Böden mit demselben quantitativen Bakteriengehalt auffinden kann. Schließlich ergibt der Boden No. 5, auch vom fernen Norden, aber bereits bearbeitet, bereits bis zu 1 Million und darüber Keime pro 1 g, d. h. das, was gewöhnlich auch unser bestellter Boden darbietet.

Mit anderen Worten, es ist wohl kaum möglich, die Böden hinsichtlich des Reichtums ihrer Bakterienflora im Zusammenhang mit den geographischen Breitengraden zu charakterisieren. Die Mikroben sind dank ihren physiologischen Eigenschaften, Ernährung, Fortpflanzung, Widerstandskraft gegen ungünstige Einflüsse, ihrer minimalen Größe usw. solche Kosmopoliten, daß ihre Quantität wohl kaum zu irgend einer geographischen Einteilung der Böden dienen kann. Mittelzahlen von Temperatur, Besonnung, Niederschlägen usw. entscheiden hier offenbar wenig. Falls in dem ganzen Jahre, wie extrem auch der betreffende Ort gelegen sei, wenigstens ein Monat mit genügend hoher Temperatur und Feuchtigkeitsgrade sich einstellt, bei anderweitigen einigermaßen günstigen Bedingungen, so wird das Bakterienleben sofort lebhaft in Kraft treten, wenngleich dasselbe in der übrigen Jahreszeit fast erlischt. Eine derartige Klassifikation wäre vielleicht möglich, wenn man, so zu sagen, das Mittel der Bakterienflora eines Bodens pro Jahr oder nach den Jahreszeiten feststellen wollte. Jedenfalls ist es sehr schwierig, aus der ganzen Summe von Faktoren bloß die klimatischen allein hinsichtlich ihres Einflusses auf die Bakterienflora des Bodens auszuscheiden, denn diese Abhängigkeit ist bloß in geringerem Grade eine unmittelbare, in der Hauptsache aber sind die klimatischen Verhältnisse insofern von Einfluß, inwiefern sie überhaupt das ganze organische Leben der betreffenden Ortschaft beeinflussen.

U. a. haben die von uns geprüften Böden auch nichts eigentümliches hinsichtlich des Vorhandenseins von nitrifizierenden und denitrifizierenden Mikroben in denselben ergeben. Eine flüchtige, nach dieser Richtung unternommene Untersuchung erwies, daß auch in den Böden des fernen Nordens diese Mikroben sich befinden können.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Zersetzung von salpetersauren Salzen durch Bakterien.

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station bei der Kaiserlich russischen Akklimatisations-Gesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

3. Mitteilung.

Von **S. A. Severin** in Moskau.

In meiner zweiten, in dieser Zeitschrift (Bd. 22. No. 11/13) abgedruckten Arbeit „Zur Frage der Zersetzung von salpetersauren Salzen durch Bakterien“ habe ich einige Angaben zur Charakteristik zweier energischer Denitrifikatoren mitgeteilt, — des B. pyocyaneus und des V. denitrificans. Vornehmlich kam es darauf an, ihr Fortpflanzungsvermögen in Erdböden von verschiedenem Typus festzustellen, und zugleich wurde auch mit Zuhilfenahme von qualitativen Reaktionen der Versuch gemacht, ihr Denitrifikationsvermögen in diesen Erdböden ins Klare zu bringen. Jetzt will ich einige Versuche, welche auf Grund von quantitativen Nitratbestimmungen ihre Reduktionstätigkeit im Erdboden genauer feststellen, mitteilen. Die Versuche wurden bloß mit zwei Erdböden ausgeführt, und zwar mit Mergelboden aus dem Garten unseres Laboratoriums, d. h. aus demselben Boden, welcher für den letzten, in der vorigen Mitteilung beschriebenen Versuch benutzt wurde, und mit Schwarzerde aus dem Gouvernement Tula. Die Energie des Denitrifikationsprozesses wurde parallel in Erdböden ohne jeglichen Düngerzusatz und nebenbei in Versuchsportionen von Erdböden mit verschiedenem Gehalt an Pferdemist, Stroh oder Urin geprüft. Die quantitative Nitratanalyse wurde nach der Schlesing-Wagnerschen Methode ausgeführt. Die Anordnung der Versuche war stets ein und dieselbe; lufttrockener Erdboden wurde durch ein 2 mm-Sieb geschüttelt, sorgfältig durchgerührt, in Portionen zu je 100 g in kleine Erlenmayersche Kölbchen eingewogen, ein Teil der Kölbchen erhielt gar keinen Dünger, die anderen wohl; der Pferdekot wurde ganz frisch, klein zerstückelt zugesetzt, das Stroh wurde ebenfalls sehr fein zerschnitten, Urin wurde vom Menschen genommen. Kalinitrat in einem Quantum von 0,1 g auf jede Versuchsportion wurde in einer bestimmten Wassermenge gelöst zugesetzt, gewöhnlich wurden 50 ccm Wasser pro Portion genommen; einige Portionen wurden nicht sterilisiert, während alle anderen bei zwei Atmosphären eine halbe Stunde sterilisiert wurden. Die Impfungen geschahen, gleichwie in den in voriger Mitteilung beschriebenen Versuchen, durch einen Stich in das Zentrum der Erdportion in dem Kölbchen mit einer Platinnadel einer zweitägigen Reinkultur des zu prüfenden Mikroorganismus auf Agar; die Versuchskolben kamen in den Thermostat auf einen Monat bei 30° C. Nach Verlauf dieser Frist wurden die Versuchsportionen untersucht. Vor allem wurden Aussaaten auf Platten gemacht, wozu jedes Mal je ein Platinöhr Erde hart an der Wand des Kölbchens, möglichst weit von dem ursprünglichen zentralen Einstich entnommen wurde, darauf kam die Erde aus den Kölbchen in Glasschalen zum Trocknen, wurde nach 2—3 Tagen auf Papier gebracht, zerrieben und bis zum lufttrockenem Zustande liegen gelassen. Danach wurde ein Bruchteil zur Bestimmung des Feuchtigkeitsgrades genommen, und 90 g Erde gingen zur Nitratbestimmung; dabei wurde stets auf gleiche Weise verfahren, und zwar wurde eine doppelte Wassermenge zugegossen mit Einrechnung der Bodenfeuchtigkeit (insgesamt 180 ccm Wasser), zwei Tage (im letzten Versuche bloß 24 Stunden) an kühlem Orte stehen gelassen; innerhalb der ersten 24 Stunden wurde der Boden 7 mal durchgeschüttelt, die anderen 24 Stunden in Ruhe gelassen, sodann filtriert. War das Filtrat mitunter trüb, so wurde noch durch Chamberland-Kerze filtriert, von dem Filtrat wurden bei allen Bestimmungen je 90 ccm zu weiterer Analyse entnommen.

Der erste Versuch wurde mit Mergelboden aus dem Garten angestellt; vermittels qualitativer Reaktion wurde in demselben die Anwesenheit von natürlichem Nitrat nachgewiesen, geimpft wurde mit einer Kultur des B. pyocyaneus, als Dünger diente Pferdemist. Insgesamt wurden 7 Versuchsportionen genommen, davon waren projektiert: 1) eine nicht sterilisierte und nicht geimpfte, d. h. ein Boden in seinem Urzustand, 2) eine sterilisierte und nicht geimpfte, 3) eine nicht sterilisierte aber geimpfte; die übrigen vier waren sterilisiert und geimpft, davon eine ohne Kotzusatz, die übrigen mit 1,2 Proz. und 4 Proz. Kot, sämtliche Portionen erhielten je 50 ccm Wasser und je 0,1 g KNO_3. Leider wurden sämtliche Versuchsportionen aus Versehen sterilisiert, deswegen kamen die fünf letzten Portionen in den Thermostat, darunter war No. 3 nicht geimpft. Somit gab es bei diesem Versuche 3 sterile und nicht geimpfte Portionen, davon wurden zwei sofort nach der Sterilisierung einer Analyse unterzogen, während die dritte, wie eben angegeben, nicht geimpfte — mit den anderen Portionen auf einen Monat in den Thermostat gestellt wurde.

Bemerkt sei, daß in dieser Arbeit sämtliche Daten der Analysen bloß in ihren unmittelbaren Resultaten vorgeführt sind, d. h. die Menge von NO in Kubikzentimeter, natürlich zu 0° und 760 mm Barometerdruck berechnet, doch ohne Berechnung auf trockenen Boden. Letzteres unterlassen wir aus dem Grunde, weil der Feuchtigkeitsgrad in sämtlichen Bodenportionen einander so nahe war, daß diese Berechnung überflüssig wird, und deswegen sind auch sämtliche Zahlen, insbesondere die eines jeden Versuches appart, vollkommen mit einander vergleichbar. Alle Fehlerquellen der Analyse, wie z. B. die Anwesenheit einer größeren oder geringeren Menge von organischer Substanz in den Auszügen, die Unterschiede infolge von verschieden großem Düngerzusatz zu den Böden usw. sind an und für sich so gering, daß sie unserer Aufgabe, die Resultate zu vergleichen, nicht im Wege stehen können, was teilweise auch bei genauer Würdigung der Versuchsresultate unschwer einzusehen ist.

Nach Verlauf eines Monats wurden die Versuchsportionen aus dem Thermostaten entfernt und einer Untersuchung ausgesetzt. Sämtliche Portionen erwiesen sich als noch merklich feucht, Aussaaten zeigten bei den geimpften Portionen überall eine kolossale Menge von Kolonien des B. pyocyaneus, irgend welchen Vergleich hier anzustellen, war unmöglich — so sehr waren alle Platten mit Kolonien besät; die sterile und nicht geimpfte Portion No. 3 erwies sich bei der Analyse als wirklich steril. Die Nitratbestimmung ergab folgendes: Die ersten zwei analysierten Portionen ergaben sofort nach der Sterilisation 11,9 und 11,3 ccm NO, die den ersten zwei gleiche Portion No. 3, welche aber in dem Thermostat gestanden ist, wurde leider zerschlagen, der geimpfte Boden ohne Kotzusatz ergab 11,8 ccm, der mit 1 Proz. Kot — 11,4 ccm, mit 2 Proz. Kot — 11 ccm, mit 4 Proz. — 9 ccm.

Somit erwies sich, ungeachtet der ungeheuren Entwicklung des B. pyocyaneus in dem Versuchsmergel, das Nitrat als vollständig intakt; es war nicht nur kein Denitrifikationsprozeß vorhanden, sondern das Nitrat wurde sogar von dem Mikroorganismus nicht zum Aufbau seiner Zellen ausgenutzt; die Sache änderte sich auch nicht bei Zusatz von 1 und 2 Proz. Kot, und erst bei 4 Proz. Kotzusatz waren 23 Proz. des Nitrats zu unbekanntem Zwecke zerstört.

Zu dem zweiten Versuche wurde derselbe Mergelboden in 7 Versuchsportionen benutzt, geimpft wurde wit V. denitrificans, als Dünger wurde Pferdekot genommen, Wasser wurde zu je 50 ccm zugesetzt, nach Bedarf mit 0,1 g KNO_3. Der Versuch wurde folgendermaßen angestellt: 1. Portion sterilisiert, ohne Salpeterzusatz, 2. sterilisiert, mit Salpeterzusatz; alle anderen Portionen wurden sterilisiert und erhielten einen Salpeterzusatz, 3. Portion nicht geimpft, die übrigen 4 Portionen alle geimpft, 4. Portion ohne Kot, 5. Portion mit 1 Proz. Kot, 6. Portion mit 2 Proz. Kot, 7. Portion mit 4 Proz. Kot. Die ersten drei Böden wurden sogleich nach erfolgter Sterilisation einer Analyse unterzogen, die übrigen kamen in den Thermostat. Das Ergebnis der Analyse der ersten drei Portionen war folgendes: Bei No. 1 mit natürlichem Nitrat wurden 1,2 ccm NO, bei No. 2 — 9,2 ccm, bei No. 3 — 9,8 ccm ausgeschieden. Diese Ziffern sind etwas niedriger, als zu erwarten war, wenn man in Betracht zieht, daß 0,1 g unseres Kalisalzes nach einer Vorbestimmung 20,6 ccm NO ergaben, und daß der Boden selbst eine geringe Nitratmenge enthält. Nach Verlauf eines Monats zeigten die übrigen 4 Portionen folgendes: Die Böden waren stark feucht, eine bakteriologische Analyse zeigte die Anwesenheit von Kolonien bloß in der Portion mit 2 Proz. Kot, bei den anderen Böden ergaben Aussaaten keine einzige Kolonie. Bei dem Boden No. 2 war die Kolonienzahl auf den Platten unermeßlich geringer, als bei Entwicklung von B. pyocyaneus im Boden. Was die Nitratbestimmung anlangt, so war das Resultat folgendes: Bei dem Boden No. 4 ohne Kotzusatz wurden 3,9 ccm NO, bei dem Boden mit 1 Proz. Kot — 4,9 ccm, bei dem mit 2 Proz. Kot — 4,6 ccm, bei dem Boden mit 4 Proz. Kot insgesamt 1,6 ccm NO ausgeschieden. Demnach war bei alleiniger Vegetation des V. denitrificans im Boden der Denitrifikationsprozeß im Gange und dabei in sehr energischer Weise, doch ungefähr im gleichen Grade bei Zusatz von 1 Proz. und 2 Proz. Kot sowohl, als auch ganz ohne Zusatz; in letzterem Falle wurde sogar etwas mehr Nitrat zerstört, und erst ein Zusatz von 4 Proz. Kot hat einen merklichen Einfluß auf den Denitrifikationsprozeß ausgeübt. Unverständlich

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

erscheint bloß die Abwesenheit von Mikroben in den Böden, mit Ausnahme von No. 2, während der Denitrifikationsprozeß allenthalben energisch vor sich ging. Ein Zufall, bedingt durch herdartige Entwicklung des Mikroorganismus im Boden, wie das in der vorigen Arbeit angegeben wurde, konnte hier keine Rolle spielen, denn in diesem Boden entwickelt sich der V. denitrificans ziemlich gleichmäßig in allen seinen Teilchen, wenn auch der Boden gar keinen Dünger erhalten hat, deswegen ist einzig und allein anzunehmen, daß der Mikroorganismus zu Ende des Versuches zugrunde gegangen ist. U. a. wurden solche Fälle auch hin und wieder bei den folgenden Versuchen konstatiert.

Der dritte Versuch wurde mit demselben Mergelboden, wie bei den ersten zwei Versuchen, angestellt, insgesamt wurden 15 Versuchsportionen benutzt. Der Versuch wurde so angestellt: Sämtliche Portionen erhielten je 0,1 g KNO_3, davon wurde, 1. nicht sterilisiert und wurde dieselbe sogleich, ohne in den Thermostat zu kommen, einer Nitratbestimmung unterworfen; alle übrigen Portionen standen im Thermostat bei 30° C durch einen Monat; 2. wurde sterilisiert, aber nicht geimpft, 3. wurde nicht sterilisiert, aber gleichzeitig mit V. denitrificans und mit B. pyocyaneus geimpft; alle übrigen Portionen wurden sterilisiert, 4. mit B. pyocyaneus geimpft, 5. mit V. denitrificans, 6. mit B. pyocyaneus + 1 Proz. Stroh, 7. mit V. denitrificans + 1 Proz. Stroh, 8 und 9. ebenso + 2 Proz. Stroh, 10. und 11. ebenso + 4 Proz. Stroh, 12. mit B. pyocyaneus + 1 ccm Harn, 13. mit V. denitrificans + 1 ccm Harn, 14. und 15. ebenso + 4 Proz. Harn.

Nach Verlauf eines Monats wiesen sämtliche aus dem Thermostat herausgeholte Böden folgendes auf: Alle Böden waren noch genügend feucht zur Unterhaltung eines Bakterienlebens, besonders feucht waren die Böden mit 4 Proz. Harn, am trockensten waren die Böden mit 4 Proz. Stroh. Die Ergebnisse der bakteriologischen Analyse sind folgende: Der Boden No. 2 war unbedingt steril, der Boden No. 3 zeigte eine große Menge sehr verschiedenartiger Kolonien, doch darunter gab es sehr wenige, welche den Kolonien der zwei eingeimpften Mikroben ähnlich wären, die Mehrzahl der Kolonien, von stets verzweigter und wimperiger Form, waren ganz verschieden von den Kolonien des B. pyocyaneus und V. denitrificans; sämtliche ausschließlich mit einer Reinkultur des B. pyocyaneus geimpfte, Böden ergaben allenthalben eine Unmasse von Kolonien dieses Mikroorganismus, die Platten waren buchstäblich mit denselben überschüttet, irgend ein quantitatives Verhältnis, in Abhängigkeit von mehr oder weniger Kot-, Stroh- oder Harngehalt im Boden, mit dem Auge zu kontrollieren, war unmöglich, denn auf sämtlichen Platten gab es eine gleich unzählige Menge von äußerst kleinen Kolonien dieses Mikroorganismus. Wir verzeichnen, daß der Boden No. 3 mit seiner natürlichen Flora und noch zwei Reinkulturen auf den Platten vielfach eine kleinere Kolonienzahl aufgewiesen hat. Mit anderen Worten, die Kapazität des Bodens für Bakterien pflegt bei weitem nicht in vollem Maße ausgenützt zu sein, sobald der Boden eine natürliche und verschiedenartige Bakterienflora enthält; hier steht offenbar einer übermäßigen Vermehrung der Mikroben ein gegenseitiger Antagonismus der einzelnen Bakterienarten im Wege, welcher schließlich ein gewisses Gleichgewicht zwischen denselben unterhält. Sogar die künstliche Einführung von 2 Kulturen in den Boden, wie das in unserem Falle geschehen ist, hat die Quantität der Bodenflora nicht merklich erhöht. Der im Boden sich energisch

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

entwickelnde B. pyocyaneus hat sich, nachdem er die Konkurrenz anderer Spezies, welche das Substrat früher in Besitz genommen hatten, angetroffen hat, wie oben angegeben, unter den anderen Repräsentanten der Bakterienflora in der Minderheit erwiesen. Es ist verständlich, daß der andere Mikroorganismus, der V. denitrificans, als schwächerer, worauf wir bereits in unserer vorangegangenen Arbeit hingewiesen haben, noch weniger sich in merkbarer Menge entwickeln konnte. Ganz anders verhält sich die Sache, wenn steriler Boden mit B. pyocyaneus allein geimpft wird, dann ist, wie wir oben konstatiert haben, seine Vegetation in dem nämlichen Boden eine kollossale. Was den V. denitrificans anbelangt, so ergaben sämtliche Böden, wo er eingeimpft war, im Verhältnis zu dem B. pyocyaneus, eine verschwindend kleine Kolonienzahl, und offenbar ebenso ohne jegliche Proportionalität mit der Qualität und Quantität des in den Boden eingeführten Düngers; u. a. erwies sich der Boden mit 1 ccm Harnzusatz (No. 13) als steril. Man muß annehmen, daß der Mikroorganismus zu Ende des Monats in dem Boden zugrunde gegangen ist.

Die Ergebnisse der chemischen Analyse sind folgende: Zwei Bodenportionen — No. 4 und No. 5, d. h. die ohne jeden Zusatz, die eine mit V. denitrificans, die andere mit B. pyocyaneus geimpft, gingen verloren, weil die Kölbchen zerschlagen wurden, die übrigen ergaben folgende Menge von NO pro Kubikzentimeter bei 0° und 760 mm:

Boden	No.	1	9,3	ccm	Boden	No.	10	6,0	ccm
„	„	2	9,6	„	„	„	11	3,3	„
„	„	3	9,3	„	„	„	12	0	
„	„	6	9,5	„	„	„	13	6,2	„
„	„	7	9,9	„	„	„	14	0	
„	„	8	5,9	„	„	„	15	4,2	„
„	„	9	4,2	„					

Betrachtet man diese Ziffern, so sieht man, daß der Boden No. 3 mit seiner natürlichen Bakterienflora und außerdem noch zwei eingeimpften Denitrifikatoren, aber ohne Düngerzusatz, sein Nitrat vollauf beibehalten hat. Ob hier wirklich kein Denitrifikationsprozeß sich abgespielt hat, oder ob er wohl vorhanden war, aber der ihm entgegenarbeitende Nitrifikationsprozeß den Verlust deckte, darauf läßt sich schwerlich eine prompte Antwort geben. Höchstwahrscheinlich gab es hier weder eine Nitrifikation, noch eine Denitrifikation, dafür spricht das Resultat der Analyse der Versuchsportionen 6 und 7, welche bei je 1 Proz. Strohzusatz nichtsdestoweniger dieselbe Nitratmenge wie die ersten drei Böden ergaben. Ein Denitrifikationsprozeß beginnt merkbar bei den Böden mit 2 und 4 Proz. Strohzusatz zum Vorschein zu kommen, wobei der V. denitrificans die Nitratzersetzung etwas energischer vollzieht, als der B. pyocyaneus, und außerdem reagiert der erstere Mikroorganismus, wenn auch in schwachem Maße, auf Erhöhung der Strohmenge im Boden, im Sinne einer Steigerung des Denitrifikationsprozesses, während für den B. pyocyaneus ein Zusatz von 2 oder 4 Proz. Stroh zum Boden die Intensität des Prozesses nicht ändert, — sowohl in dem einen wie in dem anderen Falle war die NO-Menge, wie aus obigem hervorgeht, ein und dieselbe. Was den Einfluß des Harns anbelangt, so hat derselbe eine besondere Einwirkung auf die Denitrifikationstätigkeit des B. pyocyaneus; bei 1 Proz. sowohl, wie bei 4 Proz. Harn wird das Nitrat total zerstört. Der V. denitrificans reagiert ebenfalls auf Harnzusatz zum Boden, doch bereits bedeutend schwächer, als der B. pyocyaneus, wobei bei zunehmender Harnmenge einigermaßen auch der Denitrifikationsprozeß ansteigt.

Der vierte Versuch wurde wiederum mit demselben Mergelboden aus unserem Garten angestellt. Es wurden 12 Portionen genommen, alle erhielten je 1,0 g KNO_3 und alle wurden sterilisiert, davon blieb 1 nicht geimpft, 2. mit B. pyocyaneus geimpft, 3. mit V. denitrificans, 4. mit B. pyocyaneus + 1 Proz. Kot, 5. mit V. denitrificans + 1 Proz. Kot, 6. mit B. pyocyaneus + 2 Proz. Kot, 7. mit B. pyocyaneus + 4 Proz. Kot, 8. mit V. denitrificans + 4 Proz. Kot, 9. mit B. pyocyaneus + 1 Proz. Stroh, 10. mit V. denitrificans + 1 Proz. Stroh und 11. und 12. mit V. denitrificans + 4 Proz. Stroh. Sämtliche Portionen kamen nach erfolgter Sterilisation und entsprechenden Impfungen auf einen Monat in den Thermostat bei 30°. Nach Verlauf dieses Termins waren alle Portionen noch genügend feucht.

Aussaaten zeigten allenthalben Mikrobenwuchs, wobei, wie auch überall, der B. pyocyaneus in sämtlichen Portionen in gleichem Maße in ungeheuren Mengen sich entwickelte, der V. denitrificans war auch in sämtlichen Portionen in ziemlich bedeutender und ungefähr gleicher Anzahl vertreten, doch im Vergleich zu dem B. pyocyaneus war seine Entwicklung eine ganz geringfügige. Der nicht geimpfte Boden erwies sich zu Beginn des Versuches als vollkommen steril. Die Ergebnisse der chemischen Analyse sind folgende:

Boden	No.	1	9,3 ccm		Boden	No.	7	0,4 ccm
„	„	2	7,7 „		„	„	8	7,2 „
„	„	3	7,2 „		„	„	9	9,6 „
„	„	4	5,9 „		„	„	10	9,5 „
„	„	5	4,6 „		„	„	11	9,6 „
„	„	6	2,3 „		„	„	12	9,6 „

Betrachtet man diese Tabelle, so sieht man, daß der B. pyocyaneus im Boden ohne Kot- oder Strohzusatz einen geringen Teil des Nitrats zerstört hat, bei Zusatz von 1 Proz. Kot wurde der Denitrifikationsprozeß stärker, bei Zusatz von 2 Proz. Kot entfaltete sich er noch stärker, und bei 4 Proz. war schließlich fast alles Nitrat zerstört — der Boden ergab im ganzen bloß 0,4 ccm NO. Dagegen hat aber Stroh entschieden nicht den geringsten Einfluß auf das Denitrifikationsvermögen des B. pyocyaneus ausgeübt, denn mit 1 Proz. und 4 Proz. Strohzusatz ergaben die Böden ein und dieselbe NO-Menge (9,6 ccm), wie der sterile Boden (9,3 ccm). Mit anderen Worten, so sonderbar es ist, aber ein Strohzusatz zu dem Boden, in welchem der B. pyocyaneus ohne jeglichen Düngerzusatz einige Denitrifikationstätigkeit entfaltete, hat jetzt den Mikroorganismus vollständig untätig gemacht. Was den V. denitrificans anbelangt, so kommt auch, wie bei dem B. pyocyaneus, im Boden ohne Dünger einigermaßen sein Denitrifikationsvermögen zum Vorschein, wird merkbar stärker bei Zusatz von 1 Proz. Kot, doch bei 4 Proz. Kotzusatz wurde der Denitrifikationsprozeß nicht nur nicht stärker, sondern es kam nicht einmal zu dem Effekt, wie in dem vorigen Falle mit 1 Proz. Kot, schließlich ergab dieser Mikroorganismus bei 4 Proz. Kotzusatz dieselben 7,2 ccm, wie in dem Boden ohne jeglichen Dünger. Vom Stroh läßt sich sagen, daß es, gleichwie in dem Versuche mit dem B. pyocyaneus, einen gleichsam hemmenden Einfluß auf die Denitrifikationstätigkeit des V. denitrificans ausgeübt hat.

Vergleichen wir nun die Ergebnisse dieses Versuches mit denen der vorangegangenen, so werden wir zwischen denselben wenig entsprechendes finden. In dem letzten Versuche hat der Kot die Denitrifikationstätigkeit des B. pyocyaneus sehr energisch gefördert, während in dem ersten Versuche derselbe Kot gar keinen Einfluß hatte, und nur ein Zusatz von 4 Proz. Kot einen geringen Effekt erzielte. Mit Stroh war es umgekehrt, in dem letzten Versuche hat ein Strohzusatz von 1 Proz. und 4 Proz. gar keinen Einfluß gehabt, während den Ergebnissen des dritten Versuches nach ein Zusatz von 2 Proz. und 4 Proz. Stroh einen ziemlich merkbaren Effekt erzielte. Bei dem V. denitrificans hat ein Kotzusatz von 1 Proz. in dem vierten letzten Versuche die Denitrifikationstätigkeit dieses Mikroorganismus merkbar erhöht, während bei den analogen Untersuchungen des zweiten Versuches 1 Proz. Kot gar keinen Einfluß ausgeübt hat, und umgekehrt 4 Proz. Kot in dem vierten Versuche ganz wirkungslos waren, während in dem zweiten Versuche ein Kotzusatz von 4 Proz. einen merkbaren Effekt aufwies; mit Stroh war es umgekehrt, — in dem vierten Versuche sind 1 Proz. und 4 Proz Stroh ganz ohne Einfluß geblieben, während nach den Ergebnissen des dritten Versuches 2 Proz. und 4 Proz. Stroh einen merkbaren Einfluß ausgeübt haben.

Das wären die Daten, welche mir für den Mergelboden zur Verfügung stehen. In der Folge habe ich noch zwei Versuche, aber bereits mit einem anderen Boden, und zwar mit Schwarzerde aus dem Gouvernement Tula, angestellt.

Der erste Versuch wurde mit 8 Bodenportionen angestellt, alle erhielten je 0,1 g KNO_3, alle wurden sterilisiert, mit Ausnahme der 2. Portion und alle kamen auf einen Monat in den Thermostat bei 30° C. Davon wurde 1. nicht geimpft, 2. nicht sterilisiert und gleichzeitig geimpft mit B. pyocyaneus und V. denitrificans, 3. geimpft mit B. pyocyaneus, 4. mit V. denitrificans, 5. mit B. pyocyaneus + 1 Proz. Harn, 6. mit V. denitrificans + 1 Proz. Harn, 7. und 8. mit V. denitrificans + 4 Proz. Harn. Nach Verlauf eines Monats waren sämtliche Böden noch genügend feucht, Aussaaten zeigten überall eine kolossale Entwicklung des B. pyocyaneus, es entwickelte sich allenthalben auch der V. denitrificans, doch, wie bereits oben angedeutet wurde, ist seine Entwicklung quantitativ im Vergleich zu dem B. pyocyaneus verschwindend klein. Die Ergebnisse der chemischen Analyse waren folgende:

Boden	**No. 1**	**10,9**	**ccm**	**Boden**	**No. 5**	**10,4**	**ccm**
„	„ 2	9,4	„	„	„ 6	10,4	„
„	„ 3	9,3	„	„	„ 7	9,1	„
„	„ 4	10,9	„	„	„ 8	9,4	„

Aus diesen Zahlen sieht man, daß der B. pyocyaneus in dem Boden ohne Harnzusatz den Nitratgehalt ein wenig vermindert hat, wie auch in dem Boden mit 4 Proz. Harn, während in dem Boden mit 1 Proz. Harn der Einfluß des B. pyocyaneus gar nicht zur Geltung gekommen ist; der V. denitrificans hat einen ebenso schwachen Einfluß bloß in dem Boden mit 4 Proz. Harn ausgeübt, während in dem Boden ohne Harnzusatz, oder in dem mit 1 Proz. Harn das Nitrat total erhalten blieb. In dem 2. Boden, welcher neben seiner natürlichen Bakterienflora dazu noch gleichzeitig mit beiden Versuchskulturen geimpft wurde, sank der Nitratgehalt in gleich schwachem Grade, wie in den Portionen mit den Reinkulturen, wo diese Erscheinung vorhanden war.

Der letzte Versuch mit den Reinkulturen wurde mit dem nämlichen Schwarzerdboden angestellt. Die Anordnung des Versuches war dieselbe wie zuvor; es wurden 16 Portionen genommen, alle wurden sterilisiert, mit Ausnahme der 1. Portion, welche nicht sterilisiert wurde, alle erhielten je 0,1 g KNO_3. Die Impfungen und Düngerzusätze zu den Böden waren dermaßen verteilt: Der 1. Boden wurde gleichzeitig mit B. pyocyaneus und V. denitrificans geimpft, 2. blieb steril, 3. mit B. pyocyaneus geimpft, 4. mit V. denitrificans, 5. mit B. pyocyaneus + 1 Proz. Kot, 6. mit V. denitrificans + 1 Proz. Kot, 7. mit B. pyocyaneus + 4 Proz. Kot, 8. mit V. denitrificans + 4 Proz. Kot, 9. mit B. pyocyaneus + 1 Proz. Stroh, 10. mit V. denitrificans + 1 Proz. Stroh, 11. mit B. pyocyaneus + 4 Proz. Stroh, 12. mit V. denitrificans + 4 Proz. Stroh, 13. mit B. pyocyaneus + 1 Proz. Harn, 14. mit V. denitrificans + 1 Proz. Harn, 15. mit B. pyocyaneus + 4 Proz. Harn, 16. mit V. denitrificans + 4 Proz. Harn. Sämtliche Portionen standen durch einen Monat im Thermostaten bei 30° C, nach Verlauf dieser Frist waren alle noch genügend feucht. Die bakteriologische Analyse erwies in allen Portionen, wie stets, eine ungeheure Menge von Keimen; der V. denitrificans wurde auch in sämtlichen Böden gefunden, wo er eingeimpft war, und allenthalben ungefähr in gleicher Anzahl, doch im Vergleich zu dem B. pyocyaneus, wie stets, in vielmal geringerer Menge. Der nicht sterilisierte Boden, der neben seiner natürlichen Bakterienflora mit Reinkulturen der beiden Versuchsmikroben geimpft war, zeigte eine ziemlich verschiedenartige Flora, und wenn darunter auch Kolonien des B. pyocyaneus und V. denitrificans vorhanden waren, so jedenfalls in der Minderheit, doch die Gesamtzahl der Kolonien war auch hier unermeßlich geringer, als in den mit dem B. pyocyaneus allein geimpften Bodenportionen. Der 2. Boden war nach Schluß des Versuches in der Tat steril. Das Resultat der chemischen Analyse war folgendes:

Boden	No.	1	Analyse mißlungen.	Boden	No.	9	12,1 ccm
„	„	2	12,3 ccm	„	„	10	11,6 „
„	„	3	12,6 „	„	„	11	12,1 „
„	„	4	12,3 „	„	„	12	11,3 „
„	„	5	11,9 „	„	„	13	12,7 „
„	„	6	11,6 „	„	„	14	11,7 „
„	„	7	9,8 „	„	„	15	11,9 „
„	„	8	12,1 „	„	„	16	11,4 „

Diese Zahlen ergeben wiederum nichts Interessantes. Für den B. pyocyaneus führt ein Kotzusatz offenbar zu geringer Nitratzerstörung, besonders bemerkbar ist letztere bei 4 Proz. Kot, ein Strohzusatz hat gar keinen Einfluß, ein Harnzusatz von 1 Proz. ist ohne Einfluß, 4 Proz. Harn hat den Nitratgehalt ein wenig heruntergedrückt. Bei dem V. denitrificans hat der Kot keinen Einfluß ausgeübt, wenn auch bei 1 Proz. Kot ein geringer Nitratschwund beobachtet wurde, so war es bei 4 Proz. nicht der Fall, ein Strohzusatz sowohl von 1 Proz., wie auch von 4 Proz. hat den Nitratgehalt gleich schwach heruntergedrückt, dasselbe wird auch bei Harnzusatz beobachtet.

Das ist alles Versuchsmaterial, welches uns zur Verfügung steht. Stellt man die Ergebnisse der Versuche an beiden verschiedenen Böden, dem Mergelboden aus unserem Garten und der Schwarzerde aus dem Gouvernement Tula, einander gegenüber, so fällt ein verschiedenes Verhalten der

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

beiden Denitrifikatoren zu dem Bodennitrat in die Augen, in Abhängigkeit von dem Charakter des Bodens, in welchem sie vegetieren. B. pyocyaneus und V. denitrificans, welche in Fleischpepton-Bouillon die Nitrate energisch zerstören, erwiesen sich in Schwarzerde als ganz inaktiv, einerlei ob diese mit, oder ohne Dünger ist, sogar eine vom Standpunkte der landwirtschaftlichen Praxis so ungeheure Menge von Düngermaterial, wie 4 Proz. des Bodengewichtes Kot, Stroh oder Harn, hat gar keinen Effekt, und alles dieses geschieht, dies muß hinzugefügt werden, bei solcher Anordnung der Versuche, daß die günstigsten Bedingungen zur Entfaltung des Denitrifikationsprozesses geboten werden — starke Feuchtigkeit des Bodens, geringer Luftzutritt und günstige Temperatur. Freilich ist aus den angeführten Zahlen hie und da eine Verringerung der Nitratmenge in der Schwarzerde zu ersehen, doch sind diese Abnahmen so gering, und andererseits die entsprechenden Zahlen so widersprechend, daß ihnen keine besondere Bedeutung beigemessen werden kann; es läßt sich bloß ein mehr oder weniger merklicher Einfluß eines Kotzusatzes von 4 Proz. zu dem Boden konstatieren, wie das aus dem letzten Versuch zu ersehen ist, wo die Nitratmenge im Boden ungefähr um 20 Proz. abgenommen hat. Etwas ganz Verschiedenes wird bei dem Mergelboden aus dem Garten beobachtet. Hier läßt sich nicht selten bereits ein sehr merklicher Einfluß der beiden Versuchsmikroben auf das Bodennitrat feststellen, doch äußert sich dabei, wie oben bereits angedeutet wurde, dieser Einfluß bei weitem nicht immer in gehöriger Konsequenz. So hat z. B. der B. pyocyaneus bei dem ersten Versuche, in dem Boden ohne Dünger, gar keinen Einfluß auf das Nitrat ausgeübt, während in dem Boden des 4. Versuches, ebenfalls ohne Dünger, die Nitratmenge um 17 Proz. abgenommen hat. Ferner haben in dem Boden des 1. Versuches Kotzusätze von 1 Proz. und 2 Proz. gar keinen Einfluß auf die Nitratmenge gehabt, und nur bei 4 Proz. Kot hat die Nitratmenge um 20 Proz. abgenommen, während nach den Ergebnissen des 4. Versuches alle diese Kotmengen eine auffallende Wirkung hatten, bei 4 Proz. Kot war das Nitrat sogar beinahe total zerstört. Mit Stroh erhielten wir, wie bereits oben angegeben wurde, dieselben Kontraste, — in dem 4. Versuche hat das Stroh gar keinen Effekt gehabt, während in dem 3. Versuche ein Strohzusatz eine merkliche Wirkung hatte. Was die Frage anbelangt, welche von den von uns benutzten Düngesubstanzen die Denitrifikationstätigkeit des B. pyocyaneus am meisten erhöhte, so gebührt die erste Stelle dem Harn, ihm folgt der Kot, und die letzte Stelle nimmt das Stroh ein.

Der andere Denitrifikator, der V. denitrificans, ergibt ebenfalls lange nicht immer übereinstimmende Resultate. In einem Boden ohne jeglichen Dünger (2. und 4. Versuch) zerstört dieser Mikroorganismus das Nitrat, aber in einem Falle (2. Versuch) hat er die Nitratmenge um 60 Proz. verringert, in einem anderen (4. Versuch) dagegen bloß um 22 Proz. Noch größere Kontraste sieht man, wie bereits oben angegeben wurde, in der Tätigkeit dieses Mikroorganismus bei verschiedenen Versuchen und sogar in ein und demselben Versuche — bei Verwendung des einen oder anderen Düngers. So hat z. B. ein Strohzusatz im 4. Versuche gar keine Wirkung gehabt, während in dem Boden desselben Versuches der Mikroorganismus ohne jeglichen Dünger die Nitratmenge verringert hat, mit anderen Worten, das Stroh hat sogar gewissermaßen eine konservierende Rolle zum Vorschein gebracht usw. Der Harn hat den Ergebnissen des einen Versuches nach einen merklichen Einfluß auf die Nitratzerstörung ausgeübt. Welcher von den benutzten

Düngersubstanzen der erste Platz hinsichtlich ihres Einflusses auf die Denitrifikationstätigkeit des V. denitrificans einzuräumen ist, läßt sich schwer sagen, doch fördert auch hier offenbar der Kot mehr die Reduktionstätigkeit dieses Mikroorganismus, als das Stroh.

Weshalb ein und derselbe Mikroorganismus (gleichviel ob B. pyocyaneus oder V. denitrificans), bei sichtbar gleichen Versuchsbedingungen, so bunte Resultate liefert, läßt sich schwer erklären. Freilich wurden die angeführten Versuche mit Unterbrechungen im Verlaufe einiger Jahre ausgeführt, wobei ein Versuch nicht selten mehrere Monate von dem anderen zurückstand, so daß die Böden für die verschiedenen Versuche, wenn auch aus ein und demselben Terrain, so doch jedesmal von neuem, zu verschiedener Zeit und natürlich nicht aus derselben Stelle, wie die vorige Portion, entnommen wurden, ebenso konnte natürlich auch das Düngermaterial keine Ansprüche auf besondere Identität, was chemischen Gehalt anbelangt, in verschiedenen Versuchen erheben, sobald es jedesmal von neuem zu verschiedener Zeit, wenn auch in frischem Zustande genommen wurde. Ferner konnte sogar der Einfluß des Kalinitrats selbst sich geltend machen, wenn dieses an verschiedener Stelle gekauft war; an Bouillonkulturen konnte ich einen derartigen Einfluß konstatieren, das einmal gekaufte Kalinitrat wurde nämlich merklich schwächer zerstört, als dasselbe zu anderer Zeit erworbene Nitrat, nur wurde bei meinen Versuchen eben ein Nitrat von zwei verschiedenen Einkäufen, wenn auch in ein und derselben Droguenhandlung, benutzt. Schließlich, sobald die Versuche sich eine Reihe von Jahren hinzogen, konnten auf die Resultate auch gewisse Veränderungen der physiologischen Funktionen der Versuchsmikroben selbst, welche die ganze Zeit im Laboratorium auf Nährmedien gehalten wurden, einen Einfluß ausüben. Übrigens lasse ich letzteren Umstand am wenigsten gelten, denn im Verlaufe dieser Versuche habe ich ihr Denitrifikationsvermögen einige Male auf Nitratbouillon geprüft, und dasselbe erwies sich jedesmal gleich energisch. Natürlich konnten alle diese Umstände die Resultate der zu verschiedener Zeit angestellten Versuche alterieren, doch stimmen die Resultate, wie aus obigem zu ersehen ist, nicht nur bei den zu verschiedener Zeit angestellten Versuchen nicht überein, sondern bisweilen auch bei ein und demselben Versuche, wo von ungleichen Bedingungen schwerlich die Rede sein kann. Offenbar darf man bei derartigen Versuchen, wo solche komplizierte Substrate, wie Boden und Mist einerseits und andererseits ein derartig biologischer Faktor, wie es die Lebenstätigkeit der Mikroben ist, beteiligt sind, nicht jedesmal eine theoretisch vorauszusetzende Gesetzmäßigkeit und eine logische Übereinstimmung der Endresultate erwarten. Es gibt hier allem Anschein nach gewisse außer acht bleibende Faktoren, welche den Verlauf der Erscheinungen unerwartet abändern und zu einem anderen Endresultat führen, als vorauszusetzen war.

Wieder zurückkehrend zu der Beurteilung jener Erscheinung, daß in der Schwarzerde beide Versuchsmikroben, ungeachtet ihrer energischen Entwicklung, sich als Denitrifikatoren ganz unwirksam erweisen, ist man zur Erklärung dieser Erscheinung ganz ebenso genötigt, alle möglichen Hypothesen heranzuziehen. Ob hier ein Mangel an Kohlehydraten, welche den Denitrifikationsprozeß im allgemeinen fördern, einen Einfluß hat, oder ob die Huminsubstanzen des Bodens eine ungünstige Wirkung entfalten usw., das läßt sich schwer sagen. Man sollte ja annehmen, daß in der an Nährsubstanzen im allgemeinen reicheren Schwarzerde die Denitrifikationstätig-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

keit der Mikroben sich stärker hervortun müßte, als im Mergelboden, doch erweist der Versuch das Gegenteil. Dieser Bodenreichtum lenkt die Lebenstätigkeit der Mikroben nach einer anderen unbekannten Richtung ab und macht sie als Denitrifikatoren zu nichte. Es ist merkwürdig, daß auch durch einen Düngerzusatz zu der Schwarzerde die Sache nicht anders wird, während im Mergelboden derselbe Dünger, bei den nämlichen Mikroben nicht selten ihre Denitrifikationstätigkeit merkbar steigert.

Zum Schluß habe ich, um auf irgend welche Weise dennoch in der Schwarzerde einen Denitrifikationsprozeß hervorzurufen, einen letzten Versuch, aber bereits nicht mit Reinkulturen, angestellt; ich nahm den Boden mit seiner natürlichen Bakterienflora, und außerdem wurde ein Teil der Versuchsportionen noch mit B. pyocyaneus und ein anderer Teil mit V. denitrificans geimpft. Die Anordnung des Versuches war die gleiche, wie zuvor, und obgleich dieser Versuch nicht mit Reinkulturen geführt wurde, so wurden dennoch, behufs Gleichheit der Bedingungen mit den früheren Versuchen, sämtliche Versuchsportionen zuvor sterilisiert und sodann erst mit 1 ccm Bodenauszug und außerdem mit einem Nadelstich von Reinkulturen des B. pyocyaneus oder V. denitrificans infiziert. Übrigens wurden zwei Portionen bloß mit den Reinkulturen geimpft, und zwar wurde die 17. Portion, welche mit 8 Proz. Kot versehen war, mit B. pyocyaneus und die 18. Portion — auch mit 8 Proz. Kot — mit V. denitrificans geimpft. Im ganzen waren 18 Versuchsportionen vorbereitet, davon erhielt 1. kein Nitrat und wurde sofort nach der Sterilisation, nach Zusatz von 1 ccm Bodenauszug, behufs Gleichheit der Bedingungen, aus dem Kölbchen herausgenommen und danach auf den Gehalt natürlichen Nitrats analysiert; dasselbe geschah auch mit der 2. Portion, doch diese erhielt noch einen Zutasz von 0,1 g KNO_3. Alle übrigen Versuchsportionen kamen nach Düngerzusatz und Impfung auf 1 Monat in den Thermostat bei 30° C, alle erhielten auch je 1 ccm Bodenauszug, mit Ausnahme bloß der 17. und 18. Portion, wie oben angegeben wurde. Die 3. Portion blieb ohne Nitrat und ohne Impfung mit einer Reinkultur; von No. 4 an erhielten alle Portionen je 0,1 g KNO_3, die 4. Portion wurde nicht mit der Reinkultur geimpft und erhielt auch keinen Dünger. Die übrigen Portionen erhielten folgendes: No. 5 wurde mit B. pyocyaneus geimpft, No. 6 mit B. pyocyaneus + 1 Proz. Kot, No. 7 mit B. pyocyaneus + 4 Proz. Kot, No. 8 mit B. pyocyaneus + 1 Proz. Stroh, No. 9 mit B. pyocyaneus + 4 Proz. Stroh, No. 10 mit V. denitrificans, No. 11 mit V. denitrificans + 1 Proz. Kot, No. 12 mit V. denitrificans + 4 Proz. Kot, No. 13 mit V. denitrificans + 1 Proz. Stroh, No. 14 mit V. denitrificans + 4 Proz. Stroh, No. 15 mit B. pyocyaneus + 8 Proz. Kot, No. 16 mit V. denitrificans + 8 Proz. Kot und No. 17 und 18 wie oben angegeben, mit 8 Proz. Kot, aber nur mit den Reinkulturen geimpft, No. 17 mit B. pyocyaneus und No. 18 mit V. denitrificans. Nach Verlauf eines Monats wurden sämtliche Kölbchen aus dem Thermostaten entfernt, alle erwiesen sich als noch genügend feucht; sämtliche Böden, mit Ausnahme von 17. und 18., waren mehr oder weniger merklich mit Schimmelpilzen bedeckt, und zwar der 3. Boden mit schwachem Belag in Gestalt weißer Fleckchen, bei 4, 5, 6, 7 und 8 ebenfalls geringe Ausbreitung der Schimmelpilze, bei 9. starke Verbreitung, bei 10. und 11. schwache, bei 12, 13, 14, 15 und 16 starke. Aussaaten auf Platten wurden bloß aus den Böden 5, 10, 17 und 18 vorgenommen.

Dabei erwies sich bei dem 17. Boden mit der Reinkultur von B. pyocyaneus, wie stets, eine ungeheure Menge von Kolonien dieses Mikroorganismus, aber bei dem 18. mit V. denitrificans geimpften Boden waren auf den Platten gar keine Kolonien ausgewachsen, der Boden war steril. Bei den Böden 5. und 10. zeigten Aussaaten die Anwesenheit einer großen Anzahl sehr verschiedenartiger Kolonien, ob darunter Kolonien der in Reinkulturen eingeimpften Mikroben vorhanden waren, scheue ich mich zu behaupten, denn ich habe die Aussaaten in dieser Hinsicht nicht untersucht. Wenn diese Mikroben sich auch entwickelten, so war jedenfalls ihre Entwicklung eine beschränkte und eine sehr weit davon entfernte, wie diese zu sein pflegt, sobald jene allein im Boden sich befinden, ohne Konkurrenz anderer Bodenmikroben. Das nämliche muß man auch über die absolute Gesamtmenge aller Kolonien überhaupt sagen, dieselbe ist um das Vielfache geringer als dann, wenn der Boden z. B. eine Reinkultur des B. pyocyaneus enthält.

Die Ergebnisse der chemischen Analyse auf Nitratgehalt im Boden waren folgende:

Boden	**No.**	**1**	**1,6**	**ccm**	**Boden**	**No.**	**10**	**11,5**	**ccm**
„	„	**2**	**12,6**	„	„	„	**11**	**11,6**	„
„	„	**3**	**1,9**	„	„	„	**12**	**8,8**	„
„	„	**4**	**11,8**	„	„	„	**13**	**8,5**	„
„	„	**5**	**11,8**	„	„	„	**14**	**0**	„
„	„	**6**	**10,9**	„	„	„	**15**	**4,1**	„
„	„	**7**	**10,7**	„	„	„	**16**	**4,1**	„
„	„	**8**	**10,4**	„	„	„	**17**	**9,8**	„
„	„	**9**	**0**	„	„	„	**18**	**11,7**	„

Betrachtet man diese Ziffern, so sieht man vor allem, daß die natürliche Bakterienflora des betreffenden Bodens, wenn er gar keinen Dünger erhalten hat, das im Boden vorhanden gewesene natürliche sowohl als auch künstlich zugesetzte Nitrat fast gar nicht verändert; wenn auch eine gewisse Verminderung des Nitratgehaltes (von 12,6 ccm bis zu 11,8) beobachtet wird, so ist dieselbe sehr ungewiß; die Sache wird auch nicht anders, wenn dieser Flora sich die Kulturen des B. pyocyaneus oder V. denitrificans zugesellen (5. und 10. Boden). U. a. sei bemerkt, daß ich bei der Deutung der Ziffern dieses Versuches den Nitrifikationsprozeß nicht beachten werde, denn diese Ziffern sprechen wenig dafür, daß ein derartiger Prozeß in den Versuchsportionen stattfinden könnte, andererseits ist auch die Anordnung der Versuche an und für sich wenig günstig für eine Entfaltung dieses Prozesses (die Böden sind hart geworden und stark feucht, die Entstehung und der Verlauf des Nitrifikationsprozesses sind gewiß bedeutend langsamer als der Denitrifikationsprozeß, infolge der vorangehenden Sterilisation des Bodens usw.). Ein wenig stärker, doch wiederum in nicht hohem Maße, wird der Denitrifikationsprozeß bei Zusatz von 1 Proz. und 4 Proz. Kot. Dabei ist diese Steigerung dort, wo der B. pyocyaneus war, die gleiche, wie bei 1 Proz., so bei 4 Proz., bei dem V. denitrificans hat 1 Proz. Kot gar keinen Einfluß, aber ein Zusatz von 4 Proz. steigert den Prozeß mehr, als bei dem B. pyocyaneus; besonders auffallend wächst die Denitrifikationstätigkeit der Bodenflora bei Zusatz von 8 Proz. Kot an, und dabei in gleichem Maße dort sowohl, wo sich der B. pyocyaneus befand, als auch dort, wo der V. denitrificans war. Noch greller äußert sich der Einfluß des Strohs; freilich erzeugt ein Zusatz von 1 Proz. Stroh denselben relativ geringen Effekt, wie ein Zusatz von 1—4 Proz. Kot, aber ein Zusatz von 4 Proz. Stroh übertrifft sogar einen 8-proz. Kotzusatz, denn bei 4 Proz. Stroh wird das gesamte im Boden vorhanden gewesene Nitrat zerstört.

Vergleicht man nun die Ergebnisse dieses Versuches mit denen der zwei vorhergehenden mit der nämlichen Schwarzerde, so fällt es nicht schwer, einen merklichen Unterschied zwischen diesen zu erblicken. Wir haben bereits angegeben, daß bei den zwei vorhergehenden Versuchen, wo der B. pyocyaneus und der V. denitrificans in der Schwarzerde in Reinkulturen vegetierten, diese Mikroben als Denitrifikatoren untätig waren; bloß einmal hat der B. pyocyaneus mit 4 Proz. Kot mehr oder weniger merklich seine Denitrifikationstätigkeit entfaltet. Ein ganz anderer Denitrifikationseffekt zeigt sich in der nämlichen Schwarzerde, sobald diese ihre natürliche vielfältige Bakterienflora enthält; dann reagieren, wie das aus dem letzten Versuche ersichtlich ist, jene Denitrifikatoren, welche in der Schwarzerde in Symbiose mit anderen Mikroben leben, sehr merklich auf das eine oder andere Düngermaterial, indem sie ihre Denitrifikationstätigkeit mehr oder weniger heben. Freilich kann man annehmen, daß unter der Bakterienflora des betreffenden Bodens solche Denitrifikatoren vorhanden waren, welche ganz unabhängig von anderen Mikroben an und für sich imstande waren, im Gegensatz zu dem B. pyocyaneus und V. denitrificans, einen Denitrifikationsprozeß in der Schwarzerde hervorzurufen, wie es z. B. der B. pyocyaneus und V. denitrificans im Mergel tun, doch nicht weniger wahrscheinlich ist es auch anzunehmen, daß in unseren letzten Versuchen der B. pyocyaneus und V. denitrificans und vielleicht auch die anderen Mikroben deswegen eben den Denitrifikationsprozeß entfalten konnten, weil sie in Symbiose mit anderen Mikroben sich befanden. Mit anderen Worten, daß in der Schwarzerde die Versuchsmikroben, wenn sie allein sind, in Reinkulturen nicht imstande sind, das Nährmaterial des Bodens selbst sowohl, als auch des in diesen eingeführten Düngers auszunutzen, und daß dazu eine Symbiose mit anderen Bodenmikroben erforderlich ist, welche die Rolle übernehmen, dieses Nährmaterial gleichsam in eine zur Ausnutzung und zur Entfaltung der Denitrifikationstätigkeit geeignete Form überzuführen. Übrigens ist bei derartiger Anordnung der Versuche, sobald man es nicht mit Reinkulturen, sondern mit einem vielfältigen und unbekannten Gemisch von Bodenmikroben zu tun hat, sobald die Möglichkeit fehlt sich zu orientieren, welche Rolle jedem Repräsentanten dieser Flora in diesem Prozesse allein, oder in verschiedener Kombination unter einander, zukommt, der Spielraum für alle möglichen Hypothesen ein sehr ausgedehnter. Wenn wir eben zwei Hypothesen über die Ursache der Entstehung des Denitrifikationsprozesses in dem letzten Versuche ausgesprochen haben, so kann man wohl mit nicht geringerem Recht noch eine Vermutung aussprechen, indem man auf die Entwicklung von Schimmelpilzen in den Versuchsportionen die Aufmerksamkeit lenkt, und so die Entscheidung der Frage noch mehr komplizieren. Die Sache ist die, daß die stärkste Schimmelbildung in den Böden, welche oben mehr oder weniger für sämtliche Böden konstatiert wurde, gerade bei denjenigen Böden beobachtet wurde, in welchen der Denitrifikationsprozeß am stärksten verlief. Mit anderen Worten, es drängt sich die Vermutung auf, daß in diesem letzten Versuche, gleichwie in den zwei vorletzten, auch kein Denitrifikationsprozeß vorhanden war, sondern daß die Nitrate ganz einfach von der üppigen Schimmelpilzvegetation verbraucht worden sind.

Wie dem auch sei, bleibt die Frage doch unentschieden, weshalb gerade im Mergel der B. pyocyaneus und V. denitrificans ohne Vermittlung anderer Mikroben häufig imstande sind, Kot, Stroh, oder Harn als ein ihre Denitrifikationstätigkeit steigerndes Mittel auszunutzen, während in der Schwarzerde dieselben Mikroben es nicht vermögen, die nämlichen Nährsubstanzen in dieser Hinsicht auszunutzen, und dabei entwickeln sich doch beide Mikroben in jenem sowohl wie in diesem Boden vortrefflich ohne jeglichen Dünger. U. a. habe ich bei dem letzten in dieser Mitteilung angeführten Experimente nochmals den Versuch gemacht, einen Denitrifikationsprozeß in Schwarzerde vermittels Reinkulturen der Versuchsmikroben zu erzeugen, indem ich dem Boden eine kolossale Kotmenge von 8 Proz. (17. und 18. Portion) zusetzte, doch auch ein derartiger Zusatz hat die Sache wenig geändert; bei dem B. pyocyaneus sank der Nitratgehalt im ganzen um 17 Proz., d. h. sogar weniger, als es in dem vorletzten Versuche beobachtet wurde, wo bei 4 Proz. Kot derselbe Mikroorganismus 22 Proz. Nitrat zerstört hat, bei dem V. denitrificans hatte dieser Zusatz gar keinen Einfluß.

Mit vorliegender Mitteilung und den zwei vorhergehenden ist alles Material, welches mir über die Frage der Zersetzung von Nitraten durch Bakterien zur Verfügung stand, erschöpft. Bei Vorführung dieses Materials hatte ich die Absicht, nicht nur eine Artbeschreibung des von mir entdeckten V. denitrificans nach seinem Wachstum auf verschiedenen Nährmedien zu geben, sondern auch einigermaßen eine Charakteristik desselben und zugleich des allgemein bekannten B. pyocyaneus, in ihrer Eigenschaft als Bodendenitrifikatoren, nach ihrer Entwicklung und Tätigkeit im Boden zu liefern. Diesbezügliche Versuche, mit rein bakteriologischer Anordnung des Studiums der Denitrifikation in ihrem natürlichen Medium, dem Boden, gibt es fast nicht, indessen ist ohne eine solche Anordnung der Versuche, wenn man bloß sich auf mehr oder weniger wahrscheinliche Analogien mit dem, was in künstlichen Nährmedien vorgeht, beschränkt, keine Möglichkeit vorhanden, den Denitrifikationsprozeß im Boden vom Standpunkte der agronomischen Bakteriologie genauer zu klären.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Schweizerische milchwirtschaftliche und bakteriologische Anstalt Bern-Liebefeld.

Nachdruck verboten

Untersuchungen über die Beteiligung obligat anaërober sporenbildender Fäulnisbakterien an der normalen Reifung des Emmentalerkäses.[1]

Von **R. Burri** nnd **J. Kürsteiner.**

Einleitend erwähnen die Autoren den Befund von E. v. Freudenreich, wonach die sporenbildenden, Käsegeruch erzeugenden Fäulnisanaëroben bei der normalen Reifung des Emmentalerkäses nicht in Frage kommen. Weil dieses Ergebnis nicht allseitig als sichergestellt anerkannt worden ist, schien es angezeigt, diese Verhältnisse zum Gegenstand neuer Untersuchungen zu machen. Es handelte sich dabei nicht nur um die Erledigung einer Streitfrage von rein wissenschaftlichem Charakter, sondern auch um eine die Käsereipraxis stark berührende Angelegenheit. Nachdem im Gebiet der Emmentalerkäserei zur Sicherung des Betriebs schon in bedeutendem Umfange Reinkulturen mit sehr gutem Erfolg Anwendung finden, konnte es für den weiteren Ausbau der diesbezüglichen Bestrebungen nicht gleichgültig sein, ob die Frage nach der Beteiligung einer das Kaseïn in so charakteristischer Weise angreifenden, im Emmentalerkäse regelmäßig anzutreffenden Bakteriengruppe bei den Reifungsvorgängen gelöst sei oder nicht.

---

[1] Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz. Jahrg. 23. 1909. p. 422.

In einer historischen Übersicht werden die wichtigsten Veröffentlichungen, die in Beziehung zur vorliegenden Frage stehen, kurz referiert. Etwas eingehender besprechen die Autoren die Arbeiten der Anhänger jener Anschauung, wonach obligat anaërobe Sporenbildner, namentlich Bac. putrificus Bienstock und Paraplectrum foetidum Weigmann, beim Reifungsprozeß des Emmentalerkäses mitbeteiligt sein sollen. (A. Rodella, H. Weigmann.)

Den von ihnen vertretenen Resultaten stehen insbesondere die von v. Freudenreich, Orla Jensen und J. Thöni beigebrachten Beweise gegenüber.

Im experimentellen Teil der in Rede stehenden Arbeit wird versucht, in objektiver Weise die Berechtigung der einander schroff gegenüber stehenden Anschauungen durch neues experimentelles Material zu prüfen und dabei besonders die Beweiskraft der in neuerer Zeit gegen die v. Freudenreichsche Ansicht ins Feld geführten Argumente einer näheren Untersuchung zu unterziehen.

Der erste Abschnitt des experimentellen Teils umfaßt Versuche zur Isolierung von obligat anaëroben sporenbildenden Fäulnisbakterien aus normaler Käsereimilch und normalem Emmentalerkäse. Dabei war den Autoren Gelegenheit geboten, die von ihnen und andern benützte Arbeitstechnik auf ihre Zuverlässigkeit zu prüfen. Die wichtigsten Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1) Aus gestandener, sogenannter „gereifter“ Käsereimilch läßt sich Paraplectrum foetidum lactis Weigmann leicht und relativ häufig isolieren. Im großen Durchschnitt war es in 33 Proz. der Milchproben von je 40—50 ccm zu finden. In frischer Käsereimilch scheint der Mikroorganismus weniger zahlreich aufzutreten; immerhin läßt er sich hier, wie auch in der Stalluft und im leeren Käsekessel nachweisen.

2) Schwieriger gestaltet sich die Isolierung dieses und anderer anaërober Lebewesen aus „Bruch“-(Quark-)Emulsionen, aus denen Paraplectrum selbst mit Verwendung von aseptisch gemolkener, pasteurisierter Milch als Nährboden nur relativ selten isoliert werden konnte.

3) Aus marktfertigen Emmentalerkäsen kann bei Verimpfung genügend großer Mengen (je 10 ccm der Emulsion von 4 g in 100 ccm sterilen Wassers) mit Hilfe der eben angegebenen Isolierungsmethode Paraplectrum in vielen Fällen isoliert werden. Bei Verimpfung kleinster Quantitäten aus Emulsionen von weniger als 1 g wird die pasteurisierte Peptonschottenagarschüttelkultur nach R. Burri die besten Dienste zum Nachweis eventuell vorhandener Sporen leisten. Dieser Befund tritt am auffallendsten bei Verimpfung von Emmentalerkäse mit bekanntem Putrificus- und Paraplectrum-Sporengehalt in die Erscheinung.

4) Die Verwendung von entzuckertem Bouillonagar zwecks Unterdrückung der Milchsäurebakterien und Isolierung von vegetativen Putrificus- oder Paraplectrumkeimen aus Emulsionen von normalen Emmentalerkäsen ergab ein negatives Resultat.

5) Die von A. Rodella empfohlenen Eiweißkulturen eignen sich bei Verimpfung kleiner Mengen sporenhaltigen Materials für den quantitativen Nachweis von obligat anaëroben Fäulnisbakterien nicht in dem Maße wie die Peptonschottenagarschüttelkulturen, mit deren Hilfe das Vorhandensein von Putrificus- und Paraplectrumsporen mit aller wünschbaren Schärfe nachgewiesen werden konnte.

6) Bei Verwendung von größeren Impfquantitäten, die wegen der durch sie bedingten allzu starken Trübung des Agars für die Peptonschottenagarschüttelkultur zum Zwecke des Nachweises anaërober Fäulnisbakterien nicht in Betracht kommen können, leisten die Eiweißnährböden gute Dienste.

7) Es steht auf Grund der Eiweißkulturversuche fest, daß unter vollkommen normalen Emmentalerkäsen bei Verarbeitung von Impfmengen von je 1 g solche mit und solche ohne anaërobe Fäulnisbakterien (Putrificus, Paraplectrum) zu finden sind, ohne daß bezüglich der typischen Eigenschaften dieser Käsesorte irgendwelcher Unterschied zu bemerken wäre.

8) Die Bemühungen, im normalen Emmentalerkäse mittels Klatschpräparaten keimende anaërobe Sporen zu beobachten, blieben resultatlos.

9) Die Resistenz der Putrificus- und Paraplectrumsporen gegen feuchte Hitze ist sehr bedeutend. Einstündiges Kochen genügt nicht zur Abtötung.

Das Vorkommen obligat anaërober Fäulnisbakterien im Emmentalerkäse darf nach obigen Resultaten als erwiesen betrachtet werden in dem Sinne, daß diese Mikroorganismen in normalem Emmentalerkäse nur in Quantitäten von über 1 g mit Sicherheit gefunden werden konnten. Die fraglichen Lebewesen können allerdings auch zu Millionen pro 1 g auftreten, niemals aber in normalem Emmentalerkäse, sondern in abnormalen, durch und durch fehlerhaften Laiben dieser Käsesorte.

Die Rolle, welche die Fäulnisbakterien beim abnormalen Reifungsprozeß eines geblähten Emmentalerkäses spielen, in dem pro 1 g Millionen von anaëroben Keimen konstatiert werden können, ist relativ leicht zu erkennen. Viel schwieriger gestaltet sich die Beantwortung der Frage, inwieweit die obligat anaëroben Fäulnisbakterien bei der normalen Reifung des Emmentalerkäses mitwirken. Die Verhältnisse könnten vielleicht so liegen, daß die massenhafte Entwicklung der obligat Anaëroben allerdings zu einem fehlerhaften Produkte führt, während eine in gewissen Schranken sich haltende Vermehrung dieser Organismengruppe keinen Schaden stiftet, ja sogar zu den für den normalen Reifungsprozeß notwendigen Faktoren gehört.

Ein endgültiger diesbezüglicher Entscheid konnte in einwandfreier Weise nur durch die möglichst eingehende Untersuchung der Entwicklungs- und Vermehrungsmöglichkeit der Fäulnisbakterien in normalem Emmentalerkäse gefällt werden. Zu dem Zwecke führten die Autoren Impfversuche durch, die so angeordnet wurden, daß durch Vergleichung der dem Käse eingeimpften Anzahl Keime mit der Anzahl der aus ihm zu verschiedenen Zeiten der Reifung isolierbaren Keime entschieden werden konnte, ob eine merkliche Vermehrung der Fäulnisbakterien stattgefunden habe oder nicht.

Für die Impfung der Käse, bezw. der je zirka 500 Liter Milch kamen zur Verwendung:

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

a) 300 ccm einer typischen Putrificus - Milch-Reinkultur (pasteurisiert).
b) 300 ccm einer typischen Paraplectrum - Milch-Reinkultur (pasteurisiert).
c) 300 ccm einer typischen Paraplectrum - Milch-Rohkultur (nicht pasteurisiert).

Zur Feststellung der quantitativen Verhältnisse bedienten sich die Autoren der Verdünnungsmethode (Kölbchen zu 100 ccm), welcher die Vorteile der Einfachheit und Exaktheit eigen sind.

Die Resultate dieser Impfversuche, die den Inhalt des zweiten Abschnittes der Arbeit bilden, lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1) Eine Vermehrung der je einem Emmentalerkäse in Form von pasteurisierten Reinkulturen eingeimpften obligat anaëroben sporenbildenden Fäulnisbakterien Bacillus putrificus Bienstock und Paraplectrum foetidum Weigmann konnte weder bei der Reifung noch in einem anderen Existenzstadium dieser Käse konstatiert werden. Die gleiche Tatsache wurde bei Verimpfung einer nicht pasteurisierten, frisch isolierten Paraplectrum - Rohkultur konstatiert.

2) Diese Befunde stützen sich hauptsächlich auf die quantitativen Untersuchungen mit Hilfe fester Nährböden, wie Gelatine und Agar, in Schüttelkultur, die in relativ kürzester Zeit die exaktesten Resultate liefern. Diesen Anforderungen genügen die von A. Rodella vorgeschlagenen Eiweißnährböden bei weitem nicht.

3) Es liegt kein Grund vor zu der Annahme, daß in den Emmentalerkäsen eine tatsächlich stattgefundene Vermehrung der eingeimpften Fäulnisbakterien mittels der Schüttelkultur nicht hätte nachgewiesen werden können. Die Erfahrung lehrt, daß diese Mikroorganismen, falls sie wirklich in großen Mengen vorhanden sind, was bei abnormer Reifung der Emmentalerkäse eintreten kann, zahlenmäßig genau nachgewiesen werden können.

4) Durchwegs tritt bei den quantitativen Untersuchungen bis und mit dem Zeitpunkt der vollkommenen normalen Reifung der Emmentalerkäse die auffallende Lebenskraft des Milchsäurebildners Bac. caseï ε v. Freudenreich in den Vordergrund, welcher Organismus bis gegen Ende der normalen Reifung regelmäßig in sehr bedeutenden Mengen erscheint. (10 000 000—100 000 000 pro g.)

Die sehr gut übereinstimmenden, quantitativen Prüfungen schienen mit hinreichender Schärfe zu beweisen, daß bei der Fabrikation in die Emmentalerkäse eingeimpfte anaërobe Fäulnisbakterien während der normalen Reifung sich nicht entwickeln, sondern in Untätigkeit verharren. Es war nun noch wünschenswert, den Grund zu finden, warum die anaëroben Sporen in einer anscheinend für sie besonders geeigneten Umgebung nicht zur Keimung kommen konnten, wenn die Reifung des Emmentalerkäses in normalen Bahnen verlief. Die Lösung dieser Frage geschah an Hand von Kulturen obligat anaërober Fäulnisbakterien in Gegenwart von Käse-Milchsäurebakterien bezw. ihren Produkten. Die diesbezüglichen Versuche sind im dritten Abschnitt der in Rede stehenden Arbeit beschrieben. Die Ergebnisse können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

1) Die anaëroben Fäulnisbakterien Bacillus putrificus Bienstock und Paraplectrum foetidum Weigmann zeigen in flüssigen Nährböden mit Zusatz von nur geringen Mengen reiner Milchsäure, entsprechend den Säuregraden 10 und mehr, äußerst spärliches oder kein Wachstum.

2) In Übereinstimmung damit lassen die genannten Mikroorganismen in dem sonst für sie vorzüglichen Nährboden Peptonschottenagar, wenn er mit einem Zusatz von ½ ccm eines sterilen ε-Kulturfiltrates versehen ist, das dem Nährboden einen Säuregrad von nur 5 verleiht, eine Grenze der Entwicklungsmöglichkeit erkennen.

3) Den schärfsten Nachweis der durch die Beschaffenheit der Umgebung hervorgerufenen, sehr bedeutenden Hemmung, bezw. Verunmöglichung der Entwicklung, die die Fäulnisbakterien beim normalen Reifungsprozeß im Emmentalerkäse erfahren, leisten die Versuche mit Verwendung des dem jungen Käse entnommenen sterilen, sauren Molkenfiltrates, das nach Zugabe zum Peptonschottenagar Verhältnisse bedingt, die jenen im Emmentalerkäse insofern analog sind, als sie die im Emmentalerkäse wirksame Säure bis zu einem gewissen Grade zur Geltung kommen lassen, wobei jedoch zu berücksichtigen ist, daß der normale Emmentalerkäse nicht nur einen sehr viel höhern Gesamtsäuregrad aufweist wie die fraglichen Kulturen, sondern auch während der ganzen Dauer des Reifungsvorganges lebende Milchsäurebakterien in großen Massen neben den eventuell vorhandenen relativ sehr wenigen Sporen anaërober Fäulnisbakterien beherbergt, die alles eher als fördernd auf die Entwicklung der letzteren einwirken dürften.

In einer sich anschließenden Diskussion machen die Autoren ausdrücklich darauf aufmerksam, daß sie ihre Ergebnisse nur auf die bei den Versuchen ausschließlich benutzten Mikroorganismen Bacillus putrificus Bienstock und Paraplectrum foetidum Weigmann beziehen. Es entsprechen diese Organismen jenen, die nicht nur Weigmann sondern auch Rodella als in erster Linie in Betracht fallend hinstellen in dem Sinne, daß wenigstens von diesen, Kaseïn rasch peptonisierenden und dabei mehr oder weniger Käse ähnlich riechende Produkte erzeugenden obligat anaëroben Mikroben eine Mitwirkung beim Reifungsprozeß zu erwarten sei. Wenn nun für diese Fäulnisanaëroben die Nichtbeteiligung beim Reifungsprozeß bewiesen worden ist, so scheint es um so fraglicher, daß die andern obligat anaëroben Sporenbildner, die mehr Kohlehydratvergärer und im besondern Buttersäurebildner sind, beim Reifungsprozeß eine Rolle spielen.

Mit Bezug auf die verschiedenen Mitteilungen Rodellas können die Autoren die Bemerkung nicht unterdrücken, daß seine Arbeiten über die Käseanaëroben vielfach ein Mißverhältnis zwischen Behauptung und Beweis erkennen lassen. Die Tatsache, daß gewisse Anaëroben aus der Gruppe der Fäulniserreger bei ihrer Einwirkung auf sterilisiertes Hühnereiweiß dieses in eine käseähnliche Masse verwandeln, im Sinne Rodellas als Wahrscheinlichkeitsbeweis für die Beteiligung solcher Anaëroben beim Käsereifungsprozeß heranzuziehen, ist wissenschaftlich nicht gerechtfertigt. Käsegeruch und Käsegeschmack können durch verschiedene Bakterien aus verschiedenen Eiweißstoffen oder Abbauprodukten von solchen erzeugt werden, und man sollte sich nicht weiter verleiten lassen, solche Bakterien, die aus irgendwelchen Stoffen käseähnlich riechende Produkte bilden, mit allen Mitteln in irgend eine Beziehung zum Reifungsprozeß der Käse bringen zu wollen.

Die von Rodella bevorzugte Technik beim Nachweis obligat anaërober Keime in Milch und Käse bestand hauptsächlich in der Verwendung des Achalme-Passinischen Eiereiweiß-Wassernährbodens, der mitunter ganz gute Resultate gibt, wenn es sich darum handelt, vereinzelte anaërobe Keime in einem Keimgemisch nachzuweisen. Häufig läßt aber das Verfahren im Stich aus Gründen, die bei den verwickelten Verhältnissen, wie sie z. B.

in einer keimreichen Käseemulsion vorliegen, kaum zu erkennen sind. Die festen Nährböden, insbesondere die Schüttelkulturen, werden von Rodella als zur Isolierung der Anaëroben nicht geeignet befunden, und es wird v. Freudenreich als Zeichen mangelhafter Technik vorgeworfen, daß er sich nur der Schüttelkulturen unter Anwendung der Burrischen Röhren bediente. In vorliegender Arbeit ist aber an Hand vergleichender Versuche mit beiden Methoden die glänzende Überlegenheit der Schüttelkulturen über die verschiedenen von Rodella empfohlenen flüssigen Nährböden bewiesen worden. Aus der Überlegenheit der flüssigen Anreicherungskulturen beim Nachweis vereinzelter Keime auf die Überlegenheit dieser Kulturen über die Verwendung passender fester Nährböden für quantitative Keimbestimmungen überhaupt zu schließen, muß als schwerer Irrtum bezeichnet werden.

Auffallend ist, daß Rodella sich niemals ernstlich um die Ermittlung der quantitativen Bakterienverhältnisse im Verlaufe des Reifungsvorganges bemüht. Was er konstatiert, ist, daß man in weniger als 0,5 g normalen Emmentalerkäses mit Hülfe der von ihm geübten Technik regelmäßig Fäulnisanaëroben finden könne. Dieser Befund, auch wenn er allgemein zutreffend wäre, kann aber doch kaum als wichtig in die Wagschale fallen. Wenn Rodella behauptet, daß für die Peptonisierung des Kaseïns etliche Hundert Fäulnisanaërobe mehr bedeuten als Millionen von Milchsäurebakterien, so ist darauf zu erwidern, daß im normalen Emmentalerkäse das Verhältnis der beiden Organismengruppen eben ein ganz anderes ist. Nicht etliche Hundert Anaërobenkeime entfallen auf Millionen von Milchsäurebakterien, sondern etliche Anaërobenkeime entfallen auf Hunderte von Millionen Milchsäurebakterien. Ob es aber einige wenige oder einige Tausende sind, bleibt sich ganz gleichgültig, wenn sie nur als Sporen auftreten; denn solche haben, praktisch genommen, keinen Stoffwechsel, der auf die im Käse zu beobachtenden chemischen Umsetzungen irgend welchen Einfluß ausüben könnten.

In einer von den Autoren nicht erwähnten Arbeit Rodellas[1]) wird (l. c. p. 347) bei dem Versuche einer Gruppierung der Käsesorten der Emmentalerkäse zu jenen Käsesorten gezählt, „bei denen die anaëroben Fäulnisbakterien in viel geringerer Masse (sollte vielleicht heißen: „in viel geringerem Maße?") tätig sind und keine wahre Kaseïngärung hervorrufen." Rodella hält also auch hier an der Beteiligung anaërober Fäulnisbakterien beim Reifungsprozeß der Hartkäse fest, nur will er die Tätigkeit dieser Organismen als eine mehr oder weniger beschränkte aufgefaßt wissen.

Den direkten mikroskopischen Präparaten aus Käse messen die Autoren weniger Bedeutung zu als Rodella, indem sie darauf hinweisen, daß man eine Menge von ursprünglich in der Milch und im Lab vorhandenen Keimen zur Anschauung bringt, die Leichen sind und als solche wahrscheinlich in keiner Beziehung zu den Reifungsvorgängen stehen.

Entsprechend den drei Abschnitten des experimentellen Teils der vorliegenden Arbeit kommen die Autoren auf drei verschiedenen Wegen übereinstimmend zu dem Schluß, daß die obligat anaëroben Fäulnisbakterien, repräsentiert durch Bac. putrificus Bienstock und Paraplectrum foetidum Weigmann bei der normalen Reifung des Emmentalerkäses keine Rolle spielen.

---

[1]) **Rodella, A.**, Die Kaseïngärungen und ihre Anwendungen. (Arch. f. Hyg. Bd. 59. 1906. p. 337.)

Die Gründe dafür sind in drei Schlußsätzen übersichtlich zusammengefaßt:

1) Diese Organismen sind nicht nur in der Käsereimilch, sondern auch in der frischen Bruchmasse (Quark), ebenso wie im Käse selbst zu den verschiedensten Zeiten des Reifungsvorganges, äußerst spärlich zu finden. Sie scheinen in Sporenform aus der Stall- und Käsereiluft, aus Kuhkot usw. in die Milch und damit in den Käse zu gelangen, wo sie, ohne auszukeimen, verbleiben. Ihre Zahl im Käse dürfte sich im Mittel zur Zahl der Milchsäurebakterien ungefähr wie 1 : 100 000 000 verhalten.

2) Bei Impfung der Käsereimilch mit Sporen dieser Organismen läßt sich irgend ein Einfluß auf den Ausfall des Käses nicht feststellen. Die bei unsern Versuchen in der Zahl von 10 000 bis 100 000 pro Gramm Käse zugesetzten Sporen ließen sich unmittelbar nach der Fabrikation, am Anfang, zu verschiedenen Zeiten während und am Ende der Reifungsperiode mit überraschend guter Übereinstimmung quantitativ wieder finden, und erst nach Monaten schien ihre Zahl, offenbar infolge von Abschwächung und Absterben, etwas zurückzugehen.

3) Die Ursache des Nichtauskeimens der Sporen der obligat anaëroben Fäulnisbakterien im Emmentalerkäse ist in der Säureempfindlichkeit dieser Organismen erkannt worden. Bei Verimpfung sehr entwicklungskräftigen Sporenmaterials in Nährböden, die durch Zusatz von auf kaltem Wege keimfrei gewonnenem Saft aus jungen Käsen sauer gemacht waren, blieb jedes Wachstum aus schon bei Säuregraden, die bedeutend niedriger sind, als jene, welche die wenigen in den Käse gelangenden Sporen hier zu ertragen haben.

Referate.

Lindau, G., Paul Hennings †. (Hedwigia. Bd. 48. 1909. p. 1—5. Mit Bildnis).

Paul Christoph Hennings ist am 27. 11. 1841 zu Heide im Dithmarischen als Sohn eines Lohgerbermeisters geboren. Er besuchte zeitweise das Gymnasium und trat dann als Volontär am Botanischen Garten in Kiel ein. Im Winter 1863/64 hörte er Vorlesungen an der dortigen Universität, wurde aber bei Ausbruch des Krieges gezwungen, als Postexpeditor zuerst nach Augustenburg, später nach Hohenwestedt zu gehen. Während seiner Tätigkeit als Postbeamter, die bis zum Jahre 1874 dauerte, widmete er sich eifrig der Botanik, gab landwirtschaftliche Herbarien heraus und hielt Vorlesungen über landwirtschaftliche Themata. Am 1. April 1874 wurde er von Eichler als Assistent wieder an den Botanischen Garten in Kiel berufen, 1879 folgte er Eichler nach Berlin, wo er am 1. Oktober 1880 wissenschaftlicher Hilfsarbeiter am Museum wurde. Hier erschien seine Phycotheca marchica. Jetzt wandte er sein Hauptinteresse den Pilzen zu. Über 250 Publikationen aus dem Gebiete der Mykologie legen Zeugnis ab für seine intensive und gewissenhafte Arbeit. Erst mit seiner Ernennung zum Kustos im Jahre 1891 wurde ihm eine seinen Leistungen angemessene Honorierung zuteil.

Hennings war in allem Autodidakt. Er hat sich alles, was er zu seinen Arbeiten brauchte, selbst erworben. Eine unerschütterliche Pflicht-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

treue, eine liebevolle Hingabe zu seinem Beruf und eine seltene Bescheidenheit zeichneten ihn aus. Mit unbegrenzter Liberalität gab er von seinem reichen Wissen an jüngere Freunde und Kollegen ab.

Hennings war seit 1876 verheiratet. Von seinen beiden Söhnen wurde ihm der jüngere im August 1907 nach langer qualvoller Krankheit entrissen. Von diesem Schlage hat er sich nicht mehr erholen können. Am 14. Oktober 1908 starb er nach kurzem Krankenlager.

Herter (Montevideo).

Laurent, Emile, Sur la prétendue origine bactérienne de la diastase. (Recueil de l'Instit. botan. de l'Univers. de Bruxelles. Publié par L. Errera. T. 4. 1908. p. 1—17.)

In den Geweben der Pflanzen gibt es normalerweise keine Bakterien. Nicht nur die vegetative Zelle, sondern auch die Mikrobe vermag Diastase oder andere lösliche Fermente abzusondern. Matouschek (Wien).

Bach, A., Über den Stickstoffgehalt der Oxydationsfermente. (Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Vol. 91. 1908. p. 226—227.

Tschirsch und Stevens konnten (1905) bei der Laccase den Stickstoff nicht nachweisen. Dem Verf. gelang dies; auch bei der Peroxydase und anderen aus diversen Pilzen gewonnenen Oxydasen, und zwar nach der Lassaigneschen Methode. Er nahm nicht zu wenig metallisches Kalium, aber nie Natrium. Matouschek (Wien).

Price and **Stokes,** The pollution of streams by distillery waste. (Journ. of the Americ. med. Assoc. Vol. 52. 1909. No. 16.)

Die Einwohner einiger am Ufer des Patapsco-River (Maryland) gelegenen Ortschaften beschwerten sich darüber, daß sie durch Abwässer der am Ufer desselben Flusses stehenden Fabriken, einer Gerberei und einer Roggenwhiskyfabrik, in unerträglicher Weise belästigt werden. Bei der daraufhin vorgenommenen Kommission wurde festgestellt, daß der Fluß ungefähr ¼ Meile stromabwärts von der Whiskyfabrik stark von Algen bewachsen war und daß diese Algen es waren, die den wirklich unerträglichen Gestank verbreiteten. Nach Kellermanns Untersuchungen handelte es sich wahrscheinlich um Leptomitus lacteus. Nach den Untersuchungen der Verff. standen die Gerbereiabwässer mit dem Algenwachstum in keinem Zusammenhange (im Gegenteil, in vitro hemmten sie das Wachstum der Algen), dagegen gediehen die Algen gut in den Whiskyfabrikabwässern, aber — wie experimentell in vitro dargetan wurde — erst in einer Verdünnung von 1 : 5000. Deshalb wuchsen die Algen in dem Patapsco-River erst in einer gewissen Entfernung von der Fabrik. Wenige Tage danach, nachdem die Fabrik geschlossen wurde, war das Algenwachstum fast vollkommen verschwunden. — Die Analyse der Whiskyfabrikabwässer ergab folgenden Befund. Farbe: gelblich, Geruch: spirituös, feste Bestandteile: 17,990 (auf 1,000,000 der Abwässer), Glührückstand: 1,896, organische Bestandteile: 16,094, Chlor: 0,0205, N als freies NH_3: 0,00 833, N als Albuminoid-NH_3: 0,01 876. Bouček (Prag).

Kelhofer, W., Prüfung von Lactocolle, eines zur Schönung des Weines empfohlenen Kaseïnpräparates. Aus dem handschriftlichen Nachlaß herausgegeben von **P. Huber.** (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. 1909. p. 325.)

Seit einigen Jahren werden von deutschen und französischen Fabrikanten

Kaseïnpräparate speziell zur Weinklärung unter verschiedenen Bezeichnungen in den Handel gebracht, von denen das „Lactocolle“ eines der verbreitetsten ist. Die vorliegenden Versuche wurden nicht nur angestellt, um die Brauchbarkeit des Präparates zur Schönung der Weine zu prüfen, sondern auch dessen Eignung zur Klärung von Obstweinen zu untersuchen.

Lactocolle stellt ein weißes Pulver dar, das sich in warmem Wasser zu einer opalisierenden Flüssigkeit auflöst. Die Untersuchung ergab 11,18 Proz. Wasser, 12,12 Proz. Stickstoff und 4,45 Proz. Mineralstoffe.

Das Urteil des Verf. geht dahin, daß Lactocolle ein vorzügliches Schönungsmittel für Rotweine ist. Weißweine werden dagegen besser mit Hausenblase geklärt. Ganz unbefriedigende Resultate ergibt Lactocolle bei Obstweinen, wo Gelatine vorzuziehen ist. Die mit Lactocolle geklärten Getränke sind möglichst bald von dem sich zersetzenden Schönungsniederschlag wegzunehmen und in ein schwach mit Schwefel eingebranntes Faß abzuziehen.

Braun werdende Weine werden ohne vorherige Pasteurisierung oder Schwefelung durch Lactocolle ebensowenig geheilt wie durch andere Klärmittel. Klärungen vermittelst dieses Präparates kosten weniger als die mit Hausenblase, Gelatine oder Eiweiß.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Moncure, W. A. P., and Ellett, W. B., The domination of fermentation by the use of selected yeasts. (Report of Virginia Agric. Expt. Station. 1908. p. 99.)

Die Verff. studierten den Einfluß von zwei Reinhefen auf die Apfelweingärung, und konnten sowohl in Laboratoriumsversuchen wie in der Kellergärung einen recht günstigen Einfluß des Hefezusatzes feststellen. Die Vergärung verläuft rascher und die Individualität der Hefe macht sich im fertigen Wein bemerkbar. Bei Zusatz von Hefe 66 war gewöhnlich die Gärung vollständiger und der Wein alkoholreicher als bei Zusatz von Hefe 37 oder ohne Zusatz; der mit Hefe 66 erhaltene Wein klärte sich langsamer, aber vollständiger als die andern. Die Impfmenge betrug bei den Kellerversuchen 100 bis 200 ccm flüssiger Hefekultur für ein 30 Literfaß, bei den kleinen Laboratoriumsgärversuchen genügte bereits der Zusatz von $^1/_{5000}$ ccm Kultur zu 400 ccm Most, um die Gärung wesentlich zu beeinflussen. Die Kellergärung verlief bei 7—11° C, die Laboratoriumsversuche bei 25° C.

Otto Rahn (East Lansing, Mich.)

Höft, Kann man aus dem chemischen Nachweis von Eisen in der Butter auf eine Qualitätsverminderung der Butter durch das Eisen schließen? (Milchwirtschaftl. Centralbl. 1909. Heft 6. p. 250—252.)

Nach den Beobachtungen des Verf. wird man hinsichtlich der Schlußfolgerungen aus chemischen Untersuchungen von Butterproben, deren Mängel mutmaßlich durch Eisensalze verursacht sind, recht vorsichtig sein müssen. Der Nachweis von Eisen in der Butter gibt keine Berechtigung, die Eisensalze als Ursache von Geschmacksfehlern unbedingt anzusprechen. Auch quantitative Bestimmungen der Eisenmengen lassen keine sicheren Schlußfolgerungen zu. Eine bestimmte Antwort auf die Frage: „wieviel Eisen mindestens vorhanden sein muß, um den Buttergeschmack merklich zu schädigen“, wird man wohl nicht geben können, und es ist anzunehmen, daß gleiche Eisenmengen unter verschiedenen Verhältnissen ungleich wirken.

Ehrenberg (Breslau).

Thöni, J., Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora von nach Emmentalerart bereiteten Käsen in verschiedenen Reifungsstadien. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. 1909. p. 395.)

Verf. leitet aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen, die sich auf 4 nach Emmentalerart bereitete Käse beziehen, folgende Schlußsätze ab:

Im Innern des Käses finden sich die größten Keimmengen kurze Zeit nach seiner Herstellung. Nach Erreichung der Maximalkeimzahl tritt gewöhnlich ein Rückgang an Bakterien ein; hierauf folgt eine Periode kleiner Schwankungen, die ungefähr mit der Zeit, während welcher die Käse im Gärraum gehalten werden, zusammenfällt und dann stellt sich wiederum eine langsam verlaufende Abnahme ein.

Die Hauptflora des Käseinnern besteht aus Milchsäurebakterien und Kokken. In den frisch bereiteten und einen Tag alten Käsen normaler Größe herrschen die Kokkenarten im allgemeinen vor, gehen aber dann nach kurzer Zeit rasch zurück, während die Milchsäurebakterien entsprechend ansteigen und dann 80—100 Proz. der Flora ausmachen. Bei kleinen Käsen überwiegen die Milchsäurebakterien gewöhnlich schon in der frischen Käsemasse.

Neben den die Hauptflora bildenden Bakteriengruppen sind auch noch andere Organismen anzutreffen. Ihr Vorkommen dürfte nur zufälligen Charakter haben; sie machen bei normalen Käsen nur einen geringen Prozentsatz der Gesamtzahl aus. Von solchen Bakterien wurden angetroffen: verschiedene aërobe Sporenbildner, Hefen, Vertreter der Coli- und Aërogenesgruppe, Proteusarten, Bac. casei limburgensis, Bact. Zopfii und Cladosporium butyri. Die Hauptflora der Käserinde setzt sich zusammen aus Kokkenarten und Bac. casei limburgensis; ferner finden sich Milchsäurebakterien, verschiedene aërobe Sporenbildner und Hefen.

Die Keimzahlen der Käserinde sind bedeutend größer als die des Käseinnern; sie betragen ein Mehrfaches der Keimzahlen des letzteren. Die Naturlabkäse unterscheiden sich von den Kunstlabkäsen durch höhere Keimzahlen in der frischen Käsemasse, schnelleres Erreichen der Maximalkeimzahlen, durch Vorherrschen der langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien schon von Anfang an sowie durch mehr Aroma und bessere Reifung, welch letzteres Moment nicht nur bei der Geschmacksprüfung, sondern auch in den Resultaten der chemischen Analyse zum Ausdruck kommt.

Zur besseren Veranschaulichung dienen drei Tabellen in graphischer Darstellung. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Dox, A. W., Proteolytic changes in the ripening of Camembert cheese. (U. S. Dept. of Agric. Bureau of Animal Ind. Bull. 109. November 1908.)

Die Untersuchungen über Eiweißabbaustoffe in Camembert Käse sind mit etwa vier Wochen alten Käsen angestellt, die in einer amerikanischen Molkerei mit Reinkultur von Penicillium camemberti hergestellt waren. Der Reifungsprozeß ist fast ausschließlich dem proteolytischen Enzym des Penicillium zuzuschreiben, da wegen der kurzen Reifungsperiode die andern eiweißlösenden Faktoren (Galaktase, Lab und Milchsäurebakterien), welche langsam wirken, keine erhebliche Rolle spielen können. Die Protease des Penicillium ist ein Erepsin (Ereptase); sie zersetzt Kasein und Pepton, während Fibrin und geronnenes Eiereiweiß nicht ange-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

griffen werden. Eingehende Studien über dies Enzym sollen später veröffentlicht werden.

In reifem Käse wurden die folgenden Stickstoffverbindungen mit Sicherheit festgestellt: Caseoglutin, Protocaseose, die Deutorocaseosen A, B und C, a und b Peptone, Histidin, Arginin, Lysin, Glutaminsäure, Tyrosin und Leucin. Nicht gefunden wurden Paranuklein und die typischen Fäulnisprodukte Tryptophan, Indol, Skatol, Merkaptan, Phenol, und Schwefelwasserstoff. Die Abwesenheit von Paranuklein, die großen Mengen von Amidosäuren und von anorganischen, löslichen Phosphaten sprechen gegen eine peptische Verdauung und deuten die Erepsin-Natur des Pilzenzyms an.

Otto Rahn (East Lansing, Mich.)

Laurent, Emile, La Bactérie de la fermentation panaire. (Recueil de l'Instit. botan. de l'Univers. de Bruxelles. Publié par L. Errera. T. 4. 1908. p. 19—27.)

An der Sauerteiggärung nimmt außer Saccharomyces minor auch Anteil der Bacillus panificans. Er bringt eine Abspaltung von CO_2 und Verflüssigung von Albuminen hervor und ist fähig, nach dem Backen in einem nicht zu sauren Milieu das Amidon in Erythrodextrin umzuwandeln. Dadurch kommt es zur Bildung eines klebrigen Brodes.

Matouschek (Wien).

Heinze, Berthold, Über die aus der Luft gewonnenen künstlichen Stickstoff-Düngemittel, Kalkstickstoff, Stickstoffkalk und Kalksalpeter und deren Bedeutung für die praktische Landwirtschaft. (Landwirtschaftl. Mitteil. f. d. Prov. Sachsen und die Nachbarstaaten. Beil. zur Halleschen Zeitung. Jg. 28. 1909. p. 9—10, 13—15, 18—19.)

In der allgemeinen Landwirtschaft erzielt man Höchsternten niemals mit Mineraldüngern allein, es muß erfahrungsgemäß jedes 2.—3. Jahr etwas Stallmistgabe verabreicht oder es muß Gründüngung von Zeit zu Zeit durchgeführt werden. Speziell die Zufuhr von Stallmist empfiehlt sich, denn er ist als Träger von mancherlei Organismenkeimen ein vorteilhaftes Impfmaterial, um gewisse Umsetzungen im Boden zu beschleunigen oder zu verstärken und er dient zur vorteilhaften Verrottung von Gründüngungsmassen, also zur schnelleren und besseren Aufschließung der letzteren.

Der Verf. führt die vielfach schlechtere Ausnützung des Ammoniak-N im schwefelsauren Ammoniak gegenüber dem Salpeter-N auf folgende wichtigere Punkte zurück: 1) Auf eine teilweise Verflüchtigung des Ammoniak durch den kohlensauren Kalk des Bodens, 2) auf eine teilweise Festlegung von Ammoniak durch den Boden als solchen (nämlich durch Kalk, Zeolithe, Humus usw.) und 3) auf eine teilweise und zwar verstärkte Festlegung von Ammoniak-N durch niedere pflanzliche und tierische Organismen in Form von Organismensubstanzen (Amide, Eiweiß).

Nachdem Verf. besonders darauf aufmerksam macht, daß die Produktion an schwefelsaurem Ammoniak als Nebenprodukt in den Gas- und Koksfabriken noch recht gewaltig gesteigert werden kann, daß aber anderseits die Produktion der neuen N-Dünger einer noch viel größeren Steigerung entgegensieht, erläutert er in klarer Weise die Herstellung der oben im Titel genannten N-Dünger. Der Kalksalpeter speziell wirkt auf die Pflanzenentwicklung in ganz ähnlicher Weise wie der Chilesalpeter, auf den Boden aber wirkt er anders als letzterer. Der Chilesalpeter nämlich wirkt auf tonigen

Böden vermöge seines Natrongehaltes dadurch recht ungünstig, weil er eine starke Verkrustung hervorbringt. Wie aber wirken Kalkstickstoff und Stickstoffkalk (beides Calciumcyanamid) im Boden, welche Umsetzungen erleiden sie im Ackerboden? Die Versuche zeigten, daß sich freies Cyanamid und anderseits Ätzkalk abspaltet. Ersteres wird auf rein chemischem Wege in Ammoniak umgewandelt; diese Umwandlung findet aber auch durch gewisse noch nicht näher bekannte und bisher nur sehr wenig studierte Bodenorganismen sehr schnell statt. Das Ammoniak kann entweder schon direkt als solches oder aber durch weitere Organismenwirkungen in Salpeter übergeführt indirekt als Pflanzennahrung dienen. Das so auffallend schnell gebildete Ammoniak wird im allgemeinen nur sehr langsam in Salpeter umgewandelt. Man hat nun zweierlei eingewendet: 1) In gewissen Böden (z. B. organismenarmen, solchen mit geringer Absorptionskraft) kommt es zu einer Ansammlung von eventuell giftigen Stoffen in Form von Cyanamidverbindungen und Dicyandiamid. Doch wurde, besonders vom Verf., dies nicht konstatiert. 2) Die schädliche Wirkung von Phosphorwasserstoff und Acetylen, die in geringer Menge beim Anfeuchten der Kalkstickstoffe entstehen. Diese Wirkung kommt aber kaum ernstlich in Frage. 3) Der entstehende Ätzkalk wirkt schädigend auf die Pflanzenentwicklung, z. B. auf die Vergärung von N-freien kohlenstoffhaltigen kohlehydratartigen Stoffen und zwar durch Unterdrückung bezw. Verzögerung derselben. Damit verhält es sich wirklich so, doch ist die Schädigung nie eine große.

Die Kalkstickstoffe können entschieden mit viel größerem Vorteile bei der Kartoffel und dem Getreide, als bei der Rübe angewandt werden. Die Kartoffel ist eine mehr ammoniakliebende, die Rübe eine mehr salpeterliebende Pflanze. Da nach Versuchen des Verf. gerade der Kalk-N zwar sehr bald in Ammoniak, im allgemeinen aber nur sehr langsam in Salpeter umgewandelt wird, so ist es sehr wahrscheinlich, daß von der Kartoffel der größere Teil des Kalk-N schon in Form von Ammoniak aufgenommen wird, was bei der Rübe in viel geringerem Maße der Fall ist. Die Kalkstickstoffe eignen sich wenig oder gar nicht für saure Humusböden und leichtere Sandböden. Im Obst- und Gartenbau können sie sehr gut verwendet werden, wenn auch systematische Versuche noch nicht angestellt wurden. Soviel ist sicher, daß mit einseitiger übersichtlicher N-Düngung meist eine auffallende Qualitätsverschlechterung der Gemüse verbunden ist. Dies ist aber nicht der Fall, wenn gleichzeitig Phosphorsäure und Kali in richtigem Verhältnisse mit gegeben werden.

Eine günstige rechtzeitige Bodenbearbeitung spielt eine große wichtige Rolle. Nur genauere N-Bilanzen müssen und werden darüber in einiger Zeit näheren Aufschluß bringen. Man kann da getrost in die Zukunft blicken.

Matouschek (Wien).

Heinze, Berthold, Über die Verrottung des Stalldüngers. (Landwirtschaftl. Mitteilungen. Beilage zur Halleschen Zeitung. 1909. p. 41—42.)

Der Stallmist liefert bereits im Stalle selbst und später auf der Düngerstätte das Substrat, auf welchem und in welchem mancherlei und zahlreiche Organismen (Bakterien, niedere oder höhere Pilze) sich gar üppig entwickeln und verschieden tiefgehende Zersetzungen auslösen. Letztere erhöhen den Wert des Mistes, denn frischer Dünger wirkt bei weitem langsamer als der verrottete. Es läßt sich bisher noch nicht genau definieren, was der Landwirt unter dem Begriffe „Verrotten" versteht, da dieser Sammelbegriff eine ganze

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Reihe teilweise gleichzeitiger, teilweise nacheinander sich abspielender biologischer Prozesse umfaßt. Es handelt sich dabei aber vorwiegend um Organismenwirkungen, welche mehr die stickstoffreien Bestandteile des Düngers betreffen. Die Veränderungen der stickstoffhaltigen Stoffe des Stallmistes werden während der Lagerung von Mikroorganismen hervorgerufen. Der Landwirt sucht nach Möglichkeit einen allzuweit gehenden Abbau der organischen Substanz während der Lagerung des Düngers zu verhindern, denn die Kohlensäureentwicklung soll möglichst erst im Boden weiter vor sich gehen, da die Kohlensäure dort neben gleichzeitig gebildeten verschiedenen anderen organischen Säuren sehr günstig auf die Verwitterung der Gesteine im Boden einwirken kann. Die auf der Düngerstätte und später im Boden gebildeten organischen Säuren bezw. deren Kalksalze, ebenso die Pentosane, Pektinstoffe des Strohs und der Wurzelreste, die Cellulose-Aufschließungsprodukte, kurz die mannigfachen noch nicht völlig zu CO_2 und H_2O abgebauten sogenannten N-freien organischen Stoffe liefern dann zum Teil auch den Kohlenstoff für die wichtigen und wertvollen N-sammelnden Bodenorganismen, und zwar besonders durch Förderung der speziell den elementaren N der Luft in hervorragendem Maße verarbeitenden Azotobakterorganismen, wodurch der Boden weiterhin auch noch indirekt eine gewisse Bereicherung an N erfährt. — Warum wirkt ganz frischer Mist, kurz vor der Bestellung untergepflügt, meist nicht förderlich, zuweilen sogar direkt nachteilig? Verf. antwortet folgendermaßen darauf: Die in den Dünger von vornherein mit übergegangenen oder zum Teil auch erst später bei der Lagerung neu entstehenden Kohlenstoffverbindungen (Stärke- oder Zuckerreste, Pentosen, lösliche Pektinstoffe usw.) sind für die speziellen N-Sammler unter den Organismen nicht unwichtig; diese Stoffe bieten auch den verschiedensten sonstigen Organismenarten eine günstige Nahrung dar und setzen sie in den Stand, ihren N-Bedarf aus den vorhandenen Ammoniumverbindungen oder sogar aus dem Salpeter zu decken, demnach N-Verbindungen oft in beträchtlichen Mengen für ihre Zwecke zu verwerten, welche eigentlich den einzelnen Kulturgewächsen zugute kommen sollen. — Das Verrotten, das Mürbewerden und der Zerfall der strohigen Bestandteile usw. wird zunächst durch die Zersetzung der sogenannten Pektinstoffe hervorgerufen (Pektinvergärer, welche meist Plektridienformen sind). Die Zersetzung der Holzfaser (Cellulose) erfolgt durch verschiedene Bakterien und Schimmelpilze. Einige dieser sind luftscheu, andere entwickeln sich gut nur bei reichlichem Luftzutritte. Daher zersetzt sich der Dünger nicht nur bei lockerer Lagerung, sondern auch bei starkem Zusammentreten und reicher Durchfeuchtung.

Matouschek (Wien).

Br., R., Emploi des engrais dans la culture du Caféier. (Journ. d'Agr. trop. Vol. 8. 1908. p. 336—337.)

—, Traitement de la „Root disease“ de la Canne à sucre. (Ibidem. p. 315—317.)

—, La fumure du Cocotier aux Philippines et aux Seychelles. (Ibidem. p. 381—382.)

In diesen wie in vielen anderen Artikeln hebt Verf. den Wert einer richtigen Lebensweise der Kulturpflanzen hervor. Richtig behandelte Kulturgewächse sind gegen Parasiten immun.

Zu eng gepflanzte und falsch gedüngte Kaffeepflanzen werden gern von Stilbum flavidum befallen, bei richtiger Ernährung der Bäumchen verschwindet die Krankheit.

Zu den schwierigsten Kapiteln der tropischen Phytopathologie gehört wohl die Behandlung der von der „Root disease“ befallenen Zuckerrohrpflanzungen. Die Krankheit wurde zuerst im Jahre 1895 auf Java bemerkt. Während man auf dieser Insel den Schädling durch Auswahl wiederstandsfähiger Varietäten und Beobachtung der Kulturvorschriften (Lockerung des Bodens, Entfernen der Schößlinge, Desinfektion der Stecklinge usw.) fast ganz unterdrückt hat, bildet er in Westindien, Hawaii und Louisiana noch immer eine Plage der Zuckerrohrpflanzungen. Der Urheber der Krankheit, Marasmius sacchari, lebt nur auf geschwächten Pflanzen, die Herstellung günstiger Lebensbedingungen ist also die erste Vorschrift bei der Bekämpfung. Kranke Pflanzen müssen verbrannt oder zerschnitten und mit Kalk bestreut, die Stecklinge in Bordeauxbrühe getaucht werden. Schließlich darf man die Hoffnung nicht fallen lassen, widerstandsfähige Varietäten zu finden.

In den Cocospflanzungen der Philippinen ist die Anpflanzung von Leguminosen als Stickstoffzuführer sehr zu empfehlen. Verf. schlägt vor „Cowpea“, „Soy bean“ (Mucuna utilis), die Sojabohne, Cajanus indicus, Clitoria ternata. Außerdem ist hier wie auf den Seychellen mehr Wert auf die richtige Düngung zu legen. Auch in dieser Hinsicht werden Vorschläge vom Verf. gemacht.

W. Herter (Montevideo).

Soave, M., Intorno al meccanismo dell'impiego del gesso in agricultura. (Staz. sperim. agrarie. Vol. 41. 1908. p. 473—507.)

Verf. experimentierte mit Gips. Letzterer ändert das Verhältnis von Ammoniakstickstoff zu Nitratstickstoff im Boden. Gips begünstigt die Nitrifikation organischer Düngemittel, hemmt aber die Nitrifikation des Ammonsulfates. Dagegen hat Gips gar keinen Einfluß auf den Kali-Phosphor- und Kalk-Gehalt des Bodens. Auf jeden Fall wird der Leguminosenbau durch Gips begünstigt. Matouschek (Wien).

Laurent, Emile, Les microbes du sol. (Recueil de l'Instit. botan. de l'Univers. de Bruxelles. Publié par L. Errera. T. 4. 1908. p. 29—42).

An der Hand vieler Tabellen und graphischen Darstellungen wird die Entwicklung des Heidekorn (Polygonum Fagopyrum) bei Gegenwart und Abwesenheit von Bakterien des Bodens beleuchtet. Die Mikroben nehmen ihren Kohlenstoff aus dem organischen Detritus des Bodens, verwandeln letzteren in Humus, und so wird der Humus erst nutzbar für die höheren Pflanzen. Matouschek (Wien).

Fred, E. B., Assimilation of nitrogen by different strains of Bacillus radicicola in the absence of the host plant. (Report of Virginia Agric. Expt. Station. 1908. p. 132.)

In einer stickstoffreien, 1-proz. Dextrose-Mineralsalzlösung wurden Knöllchenbakterien von 15 verschiedenen Leguminosen gezüchtet, die in einem Monat im Mittel 15 mg Stickstoff pro 100 ccm Kultur gebunden hatten. Seesand, der geimpft und dann täglich mit der Nährlösung angefeuchtet wurde, zeigte im Durchschnitt der 15 verschiedenen Stämme eine Stickstoffzunahme von 6,9 mg in 100 g Sand. In dem geimpften Sande wuchs Buchweizen ziemlich gut, während er in ungeimpftem Parallelversuchen nicht über das Keimstadium hinauskam.

Otto Rahn (East Lansing, Mich.).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Laurent, Emile, Sur le microbe des nodosités des Légumineuses. (Recueil de l'Instit. botan. de l'Univers. de Bruxelles, publié par L. Errera. T. 4. 1908. p. 83—85.)

—, Recherches sur les nodosités radicales des Légumineuses. (Ibidem. p. 87—126, avec 2 pl.)

Von den Wurzelhaaren aus dringen die Mikroorganismen ein, sie bilden im Innern Stränge, welche sich verzweigen und eine Unmenge von Bakteroiden bilden, die reich an Albuminen sind. Letztere werden an die Wirtspflanze übertragen. Matouschek (Wien).

Fred, E. B., Results obtained from inoculating soy beans with artificial cultures. (Report of Virginia Agric. Expt. Station. 1908. p. 130.)

Fred berichtet über sehr günstige Erfolge von Sojabohnenimpfung mit Knöllchenbakterien, welche einen Mehrertrag von einer Tonne Stroh und 200 kg Bohnen pro acre (1,6 Morgen) erzielte. Auf einem Felde, wo bereits im Vorjahre Sojabohnen gestanden hatten, war ein günstiger Einfluß nicht bemerkbar. Otto Rahn (East Lansing, Mich.).

Schreiner, O., and **Reed, H. S.,** The role of oxydation in soil fertility. (U. S. Dept. of Agric. Bureau of Soils. Bull. 56. p. 52.)

Die beständig im Boden vor sich gehenden Oxydationen werden nach Ansicht der Verff. zum Teil durch Enzyme bewirkt, welche in geringen Mengen selbst in schlechten Böden vorhanden sind, größtenteils aber in den Pflanzenwurzeln erzeugt werden. Während die echten Oxydasen fast vollständig in den Wurzelzellen zurückgehalten werden, sind die Peroxydasen löslich und gehen in den Bodenextrakt über.

Zur quantitativen Bestimmung der oxydierenden Eigenschaften der Bodenextrakte wurden diese mit Phenolphthalin (Leukophenolphthalein) versetzt, welches, an sich farblos, leicht zu Phenolphthalein oxydiert wird, dessen rote Farbe in alkalischer Lösung eine annähernde Bestimmung mit dem Kolorimeter erlaubt. Gelegentlich wurde auch Aloin benutzt. Über die Fehlergrenzen liegen keine Angaben vor; bei den wenigen detaillierten Parallelbestimmungen am Anfang der Arbeit sind Abweichungen bis zu 50 Proz. vorhanden. Sämtliche Zahlen sind nur relativ, nicht absolut gegeben. Die meisten Daten sind Mittelwerte von Doppelbestimmungen.

Reine Bodenextrakte oxydierten nur gering. Wenn Weizenkeimlinge kurze Zeit, am besten 4—6 Tage, darin wuchsen, stieg der Oxydasegehalt erheblich, etwa auf das Fünffache. Das Wachstum von Weizenpflänzchen in verschiedenen Bodenextrakten steht nach Ansicht der Verff. in Beziehung zu der Oxydationskraft, doch stimmen von den sieben erwähnten Beispielen nur vier für diese Ansicht.

Die von den Verff. vertretene Theorie, daß die Unfruchtbarkeit vieler Böden im wesentlichen durch Bodengifte verursacht wird, wird dadurch gestützt, daß nach Behandlung der Bodenextrakte mit absorbierendem Lampenruß oder Eisenhydroxyd das Wachstum sowohl wie die Oxydationskraft zunehmen. Nach Dampfdestillation der Bodenextrakte war der Rückstand bedeutend günstiger für Wachstum und Oxydation, während das Destillat bedeutend ungünstiger wirkte als destilliertes Wasser, ein Beweis für die Flüchtigkeit der Bodengifte.

Der Zusatz von Salzen beeinflußte die Wachstumsgeschwindigkeit und die Oxydasenausscheidung nicht immer im gleichen Sinne. Nitrate und

Phosphate beschleunigen im allgemeinen beide Funktionen; Ammoniaksalze sind weniger wirksam. Auch Calciumsalze und in geringem Maße Natriumsalze waren günstig, während Kalisalze zwar gewöhnlich das Wachstum förderten, aber die Oxydaseausscheidung einschränkten. Die Wirksamkeit des Enzyms wurde bereits durch schwache Säuren stark herabgesetzt, während schwache Alkalien günstig wirkten. Die durch Salzzusatz bewirkten Zunahmen von Wachstum und Oxydasengehalt stehen in keinem direkten Verhältnis zu einander.

Die Pflanzenwurzeln sind imstande, geringe Mengen organischer Bodengifte durch Oxydation unschädlich zu machen. Der Zusatz von Salzen wie $NaNO_3$ oder $CaCO_3$ erweist sich hierbei als recht günstig.

Otto Rahn (East Lansing, Mich.).

Dachnowski, Alfred, Bog toxins and their effect upon soils. (Botanical Gazette. Vol. 47. 1909. p. 389—405. W. 2 fig.)

Verf. hat schon früher nachweisen können, daß Bodenwasser toxische Substanzen besitzt, welche das Wachsen der Pflanzen hemmen. Das Moorwasser speziell hat zu verschiedenen Jahreszeiten einen verschiedenen Gehalt an solchen Stoffen. Durch quarzigen Sand, reinen Kaolin, $CaCO_3$, lufttrockenen Humus usw. können Teile dieser Stoffe entfernt werden. Dies konnte Verf. auch an Weizenpflanzen feststellen, die er in Moorwasser kultivierte. Je mehr solcher absorbierender Substanzen verwendet werden, desto lebhafter gedeiht die kultivierte Pflanze. Annähernde Proportionalität zwischen der Menge der verwendeten festen Körper und der Abnahme der toxischen Stoffe wies er nach. Aber noch mehr: Die bisherige Ansicht, daß die Abnahme der physiologischen Tätigkeit, das Vorkommen von xerophilen Pflanzen und die Zonenbildung der Moorgewächse auf die niedrige Bodentemperatur und auf die Verminderung bezw. Vermehrung von Mineralnährstoffen, muß fallen gelassen werden. Die Ursache dieser Erscheinungen ist die Giftigkeit der Erde.

Auch Bodenversuche führte Verf. aus. Lufttrocken gesiebte Erde (400 ccm) wurde in ein Glasgefäß gegeben und mit 1200 ccm Moorwasser gemischt, im Dunklen aufbewahrt und oft geschüttelt. Die abfiltrierte Flüssigkeit (400 ccm) wurde zu Wasserkulturen verwendet. Als adsorbierende Stoffe verwendete Verf. die obengenannten. Je 200 ccm infizierte Erde kam in Töpfe oder Drahtkörbe. Gemessen wurden: Länge der Sprosse und Wurzeln, die Transpiration, das Trocken- und gewöhnliche Gewicht der Weizenpflanzen. Kulturen mit unverändertem Moorwasser und auch mit unbehandeltem Quarz-, Lehm- und Humusboden wurden der Kontrolle wegen ausgeführt. Es zeigte sich ähnliches, wie oben bei den Wasserkulturen geschildert wurde: 1) In den infizierten Böden war das Wachstum ein stärkeres als in dem unbehandelten Moorwasser; es blieb aber zurück um 18—36 Proz. hinter dem in reinen Böden. 2) Je mehr Humus, desto größer das Adsorptions- und Retentionsvermögen der Erde für Toxine. 3) In lange stehengelassenen Moorwasserlösungen oder solchen, die gut durchlüftet wurden, verlieren sich die Toxine, die Pflanzen gedeihen recht gut. Dasselbe gilt für infizierte Böden. 4) Ersetzt man das von den Pflanzen verdunstete Wasser durch Moorwasser, so wird der Boden an Toxinen reicher. Daher muß man, um Sumpfboden für die Agrikultur nutzbar zu machen, ihn durchlüften und Drainage ausüben.

Matouschek (Wien).

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Bokorny, Th., Weitere Mitteilung über die CO_2-Assimilation und Ernährung von Pflanzen mit Formaldehyd. (Pflüg. Archiv. Bd. 128. 1909.)

Im Band 125 von Pflüg. Archiv wurde vom Verf. auf Grund einiger Versuche mitgeteilt, daß die Ernährung von Algen mit freiem Formaldehyd gelungen sei, indem Spuren von Formaldehyddämpfen zusammen mit Wasserstoffgas aus einem Kippschen Apparat bei Licht- und Luftabschluß zu Spirogyren hinzugeleitet wurden; binnen einigen Tagen zeigten die Algen Stärkeansatz.

„Zur Umwandlung von Formaldehyd in Kohlehydrat braucht das Chlorophyllkorn kein Licht, wenn es auch vielleicht den Vorgang beschleunigen mag (man vergleiche die Versuche mit formalhdeydschwefligsaurem Natron im Dunkeln und im Hellen). Da nun die Kohlensäure-Assimilation unbedingt Licht erfordert, so muß die Energie des Lichtes bei der ersten Phase, der Reduktion von Kohlensäure zu CH_2O, ein unentbehrliches Agens sein.“

„Sauerstoff (Atmung) ist zur Assimilation des Formaldehydes nicht nötig.“

Das sind die wichtigsten Resultate jener Arbeit.

Im neuen Aufsatz sollen diese Beobachtungen erweitert werden; zugleich ist hier auf die Hypothesen etwas eingegangen worden, welche über die Assimilation der Kohlensäure, diesen fundamentalen Vorgang, bisher aufgestellt wurden.

Die neuen Beobachtungen zur Formaldehydernährung beziehen sich wieder auf freien Formaldehyd, aber nicht auf Algen, sondern auf Blütenpflanzen.

Aus den beschriebenen Versuchen mit Keimlingen geht mit Sicherheit zunächst das Eine hervor, daß mit der Methode, den Formaldehyd als Dampf zuzuführen, auch bei Keimpflanzen etwas ausgerichtet werden kann.

Die Versuche würden freilich glatter und von längerer Dauer sein, wenn größere Versuchsgefäße (Glocken) angewendet würden. Denn das Eingeschlossensein im engen Raum hat immer nachteilige Folgen für Pflanzen, die an freie Luft angepaßt sind. Im engen Raum entwickeln sich im Lauf der Zeit gern Pilze, welche dann eine schädliche Einwirkung auf die Keimpflanzen äußern.

Immerhin haben mir die bisherigen Versuche mit Keimlingen den Eindruck gemacht, daß der Formaldehyd eine Nährsubstanz auch für Blütenpflanzen sei, wenn er in geeigneter Weise und Verdünnung beständig zugeführt wird. Es hat sich in einigen Fällen ein deutlicher Unterschied zwischen Formaldehyd-Pflanzen und andern (nicht mit CH_2O ernährten) zu Gunsten der ersteren gezeigt; sie blieben bedeutend länger am Leben als die andern und waren kräftiger entwickelt.

Der Formaldehyd wurde als Dampf von der Oberfläche der Pflanzen aufgenommen, nicht vor der Wurzel; letztere tauchte in eine formaldehydfreie Nährlösung ein. Es ging also die Kohlenstoffernährung ähnlich wie im Freien vor sich, wo die Pflanzen ja auch die Kohlenstoffnahrung vorwiegend aus der Luft herausnehmen. Der Weg, auf dem die Kohlensäure ins Innere der Blätter und grünen Stengel gelangt, sind die Spaltöffnungen und die von da ausgehenden das ganze Organ durchsetzenden lufterfüllten Intercellularräume. Auf demselben Wege wird der Formaldehyddampf in die jungen Blätter und Stengel eingedrungen und bis zu den assimilierenden Zellen geleitet worden sein.

Im zweiten Teil des Aufsatzes werden dann die verschiedenen neueren Hypothesen über den Vorgang der Kohlensäure-Assimilation in grünen Blättern besprochen.

Von allen angeführten Hypothesen vermeiden nur zwei den Formaldehyd als Zwischenprodukt der Kohlensäureassimilation, die von Crato und Etard. Die ältere Theorie von Liebig-Ballo, wonach Weinsäure usw. die Vorläufer der Stärke sein soll, gehört eigentlich als dritte dazu, ist aber in den obigen Auseinandersetzungen übergangen, da sie wohl als abgetan gelten kann.

Fünf weitere Hypothesen (die von Baeyer, Bach, G. Pollacci, Usher und Pristley und die Eiweißstärke-Hypothese) nehmen den Formaldehyd als Zwischenglied bei der Kohlensäure-Assimilation an.

Der Formaldehyd verdient also besondere Beachtung. Sein Nachweis in den Chlorophyllorganen ist, ebenso wie der Beweis seiner Verwendung zur Stärkebildung von dem größten phlanzenphysiologischen Interesse. Es besteht eine große chemische Wahrscheinlichkeit für die Formaldehydhypothese, da sich kein anderer Stoff mit einem Kohlenstoffatom im Molokül so zur Bildung hoch zusammengesetzter organischer Verbindungen eignet, wie der Formaldehyd. Nicht umsonst haben hervorragende Chemiker an diesen Stoff gedacht bei Erklärung der Kohlensäure-Assimilation in den Pflanzen.

Daß der Formaldehyd zur Assimilation und Stärkebildung verwendet werden kann, unterliegt keinem Zweifel mehr. Es geht dies aus früheren Arbeiten und auch wiederum aus den oben beschriebenen Versuchen hervor. Bei der Wichtigkeit der Sache ist es aber am Platze, Versuche mit möglichst vielen Pflanzen anzustellen; Verf. gedenkt in dieser Richtung weiter zu arbeiten. Die physiologische Formaldehydfrage verdient es, beständig im Fluß erhalten zu werden.

Jedenfalls hat die an Formaldehyd anknüpfende Assimilationshypothese vor andern immer die chemische Wahrscheinlichkeit im Vorhinein voraus. Freilich sind die Verhältnisse in der lebenden Zelle ganz andere, als im Reagenzglas und muß also mit Paralellisierungen vorsichtig umgegangen werden. Gegenwärtig ist man geneigt für alle möglichen chemischen Umwandlungen in der lebenden Zelle besondere Fermente anzunehmen. So wird auch für den Assimilationsvorgang die Frage aufgeworfen, ob nicht ein Ferment die Umwandlung der Kohlensäure in Kohlehydrat bewirke. Van t'Hoff hat sogar die Zymase herangezogen; sie könne vielleicht aus Kohlensäure und Alkohol unter Lichtmitwirkung wieder Kohlehydrat herstellen. Doch hat dies wohl keine große Wahrscheinlichkeit für sich.

Autoreferat.

Francolini, F., L'azione nociva della calciocianamide sul'olivo. (Italia Agricola. Vol. 45. 1909. p. 12—14. Mit farb. Taf.)

Mattei, V., Azione nociva della caldiocianamide sul mandorlo. (Ebenda. p. 86—89.)

Kalkstickstoff ruft eine eigentümliche Blattspitzendürre und Blattfall beim Olivenbaum wie beim Mandelbaum hervor, und zwar schon bei einer Gabe von 1—2 kg pro Baum. Die Wurzelhaare hatten beim Ölbaum eine verdickte, verholzte und olivenbraune Zellwand. Die ärgste Wirkung wurde auf Sandboden beobachtet; auf Humus- oder Torfboden ist sie bedeutend gemildert und schwankt je nach der Olivensorte.

E. Pantanelli (Rom).

Peck, Ch. H., New species of fungi. (Bull. of Torrey Bot. Club. Vol. 36. 1909. p. 153—157.)

Es werden als neu beschrieben:

Clitopilus Davisii, Eccilia flavida, Boletus Morrisii, Herpotrichia rhodospiloides (auf entrindetem Holz von Populus deltoides), Botrytis uredinicola (als Parasit einer Uredinee auf Panicum virgatum L.), Gyroceras divergens (auf lebenden Blättern von Celtis occidentalis L.), Cercospora brunnea (auf Blättern von Prenanthes altissima L.), Cercospora biformis (auf Blättern von Passiflora incarnata L.), Fusarium juglandinum (auf Juglans nigra L.), Fusarium Bartholomaei (auf Sorghastrum [L.] Nash.).

Herter (Montevideo).

Höhnel, Franz von, Fragmente zur Mykologie. V. No. 169—181. (Sitzungsber. d. kaiserl. Akad. d. Wissensch. Wien. math.-nat. Klasse. Bd. 47. Wien 1908. Abt. I. p. 985—1032, m. 3 Textfig. u. 4 Taf.)

Neu sind folgende Arten und Gattungen:

Helicobasidium inconspicuum (auf morschem Eichenholze im Wiener Walde), Zythia coeruleo-atra (auf hartem am Boden liegenden Holz von Carpinus Betulus, ebenda), Eleurotheromycella (n. g.) mycophila (zu den Nectrioideae-Zythiae gehörig, auf Polystictus versicolor schmarotzend, ebenda), Pseudopatellina n. g. mit Ps. conigena (Niessl) v. Hoehn. (synonym dazu ist Dacrymyces conigenus N.), ferner die javanischen Hypogaeen Sphaerocreas javanicum, Hymenogaster javanicus, Corditubera microspora, Hydnobolites javanicus; endlich Aeruginospora (n. g.) singularis (eine Agaricinee mit himmelblauen Sporen, unter Bambusgebüsch auf Java) und die an Termitennestern lebende Neoskofitzia termitum, der sicher ein Schmarotzer auf Holz ist. Von der Agaricinee Oudemansiella spec. wird eine geänderte Gattungsdiagnose entworfen. Bezüglich der Synonymik und systematischen Klassifikation interessiert uns hier besonders:

Phlebophora rugulosa Lév. ist in die Gattung Mycena zu stellen; Sphaeria barbirostris Duf. muß Lentonnita barbirostris (Duf.) v. Hoehn, Sphaeronema flavo-viride Fuckel Stilbella flavovridis (F.) v. Hoehn. heißen; Dacrymyces adpressus Grogn. ist nur Tremella mesenterica, Cytospora melasperma Fr. var. Fraxini All. ist identisch mit Dendrophoma pruinosa (Fr.) Sacc., Ceracea aureoflava Bres. mit Dacrymyces confluens Karst.; Polyporus cadaverinus Schulz ist wohl nur eine Altersform von Fistulina hepatica.

Auf die vielen anderen kritischen Bemerkungen, insbesondere auf die gediegene Untersuchung der Termitenpilze Javas müssen wir hier nur auf die Originalarbeit hinweisen. —

Matouschek (Wien).

Martin, C. E., Observations mycologiques hibernales. (Bull. Herb. Boissier. Sér. II. T. 8. 1908. p. 442—444.)

Verf. sammelte 7 Pezizeen im Winter in Veyrier, Kanton Genf. Außerdem teilt er Beobachtungen über Gyromitra und Discina mit.

Herter (Montevideo).

Jaap, Otto, Drittes Verzeichnis zu meinem Exsiccatenwerk „Fungi selecti exsiccati“, Serien IX—XII (Nummern 201—300), nebst Beschreibungen neuer Arten und Bemerkungen. (Verhandl. Bot. Ver. Brandenburg. Bd. 50. 1908. p. 29—51.)

Die bekannte schöne Sammlung enthält diesmal außer einer Chytridiinee, einer Peronosporinee und einer Hemiascinee (sämtlich Pflanzenparasiten) besonders parasitische Ascomycetes, Ustilagineae, Ure-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

dineae, Autobasidiomycetes und Fungi imperfecti. Es befinden sich darunter folgende neue Arten:

Dasyscypha rosae auf Rosa-Blättern, Naemacyclus penegalensis auf Blättern von Arctostaphylus uva ursi, Uromyces ovirensis parasiotisch auf Primula Wulfeniana in den Karawanken bei 2125 m, Cytospora sororia auf Blättern und Zweigen von Myrica gale, Cytospora myricae-gales ebendort, Botrytis latebricola auf Alnus- und Fagus-Stämmen, Ramularia asteris-tripolii parasitisch auf Aster tripolium in Holstein, Isaria lecaniicola parasitisch auf der Schildlaus Lecanium persicae an Zweigen von Corylus avellana in den Karawanken, Hymenula rhodella auf Nadeln von Pinus silvestris, Volutella Jaapii auf einem Pinusstamm.

Nach den Beobachtungen des Verf. gehören folgende Pilze zusammen:

Pseudopeziza ribis, Konidienform: Gloeosporium ribis.
Biatorella resinae, „ Zythia resinae.
Tympanis alnea, „ Dothiorela inversa.
Phacidium multivalve, „ Centospora phacidioides.
Nectria sinopica, „ Sphaeronaemella Mouglotii
Nectria punicea, „ Tubercularia vulgaris.
Mycosphaerella hieracii, Konidienform: Ramularia hieracii
Gnomonia gnomon, Konidienform: Gloeosporium coryli.

Die Pilze stammen aus den verschiedensten Gegenden Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Herter (Montevideo).

Sydow, H. et **P.**, Micromycetes japonici. (Annales mycologici. Vol. 7. 1909. p. 168—175.)

Eine Aufzählung von japanischen, von J. Miyake und Miß T. Yoshinaga gesammelten Pilzen; darunter folgende neue Arten:

Puccinia melanoplaca auf Patrinia palmata, Puccinia Miyakei auf Carex siderosticta, Aecidium Actinidiae auf Actinidia arguta, Aecidium Trigonotidis auf T. peduncularis, Seynesia ilicina auf Blättern von Ilex integra, Septoria Kerriae auf Kerria japonica, Cercospora Achyranthis auf Achyranthes bidentata, Cercospora obtegens auf Hydrangea hortensis, Hadronema n. gen. Dematiacearum (von der nahestehenden Gattung Hadrotrichum durch zweizellige, warzige Konidien verschieden) mit 1 Art H. orbiculare auf Quercus glauca, Teratosperma n. gen. Dematiacearum (durch die höchst eigentümlich gestalteten, ankerförmigen Konidien charakterisiert), mit 1 Art Teratosperma singulare auf Ulmus parvifolia, Urocystis Dioscoreae auf Dioscorea Tokoro, Dimerium elegans auf Pasania cuspidata, Uleomyces decipiens auf Quercus thalassica, Cercospora profusa auf Acalypha australis.

Neger (Tharandt).

Hennings, P., Fungi paraënses. III. (Boletin do Museu Goeldi Pará. Vol. 5. 1908. p. 268—293.)

Abdruck der gleichnamigen Arbeit in Hedwigia. Bd. 48. 1908. p. 101 bis 117 (vgl. Referat p. 000). Herter (Montevideo).

Herter, Guillermo, Hongos coleccionados en la República Oriental del Uruguay. (Rev. Facultad Agron. Montevideo. Vol. 2. 1907. p. 143—152, m. 7 fig.)

Verf. gibt eine erste Liste von 61 in Uruguay gefundenen Pilzen. Von Pflanzenparasiten befinden sich darunter:

Albugo sp. auf Raphanus sativus L.; Peronospora sp. auf Ficus carica L.; Phyllachora Eleusinis Speg. auf Chloris distichophylla Lag.; Oidium auf Pisum sativum L., Xanthicum italicum Moretti, Xanthium spinosum L., Datura Stramonium L. und Begonia; *Uncinula polychaeta (B. et C.) Trc. et Gll. auf Celtis Tala Walp; Ustilago Maydis (D.C.) Tul. auf Zea Mays L.; Ustilago Euchlaenae Arcangeli auf Euchlaena mexicana Aut.; Ustilago Avenae (Pers.) auf Avena sativa L.; Ustilago Tritici (Pers.) Jens. auf Triticum vulgare L.; Ustilago sp. auf Paspalum dilatatum Poir. var. sacchariferum Arech.; Uromyces Betae Tul. auf Beta vulgaris L.; Uromyces Fabae Schroet. auf Vicia Faba L.; Uromyces striatus Schroet. auf Medicago sativa L.; Puccinia graminis Pers. auf Hordeum vulgare L.; Puccinia dispersa Erikss. et Henning auf Triticum vulgare L.; Puccinia Poarum Nielsen auf Poa annua L.; Puccinia coronifera Kleb. auf Avena sativa L.; Puccinia Maydis Bereng. auf Zea Mays L.; Puccinia Malvacearum Mont. auf Malva sp. und Malva silvestris L.; Puccinia Compositarum Schlt. auf einer neuen Carduinee und Chrysanthemum indicum Hort.; Puccinia sp. auf Cynosurus cristatus L., Lolium perenne L. und Festuca elatior L.; Aecidium Hieronymi Speg. auf Acacia sp.; Aecidium Modiolae Thuem. auf Modiola sp.; Aecidium sp. auf Berberis sp.; Phragmidium subcorticium (Schrnk) Winter auf Rosa sp.; *Ravenelia Hieronymi Speg. auf Acacia sp.; Phoma legriminum Pass. auf Acacia sp.; Septoria Petroselini Desm. var. Apii Bres. et Cav. auf Apium graveolens L.; Pestalozzia discolor Speg. auf Camellia japonica L.; Cercospora beticola Sacc. auf Beta vulgaris L.; Fusarium sp. auf Acacia sp.

Die mit * versehenen Pilze sind abgebildet. Autoreferat.

Ferdinandsen, C. and Winge, Ø., A couple of new Fungi collected by F. Børgesen in the Danish West Indies. (Videnskab. Meddelelser fra d. naturh. Foren. i Kjøbenhavn. for 1908. p. 141—144, w. 1 plate.)

Pyrenomyceten: Eutypella Cocos n. sp. ((in epicarpio sicco Cocos nuciferae L.), Phyllochera Randiae Rehm subsp. aculeatae Ferd. et Wge. (folia viva Randiae aculeatae), Spirogramma Boergesenii n. g. et n. sp. (ad ramos siccos arborum).

Sphaeropsidaceae: Dothiorella pseudodiblasta n. sp. (species prima Dothiorellae in planta monocotyledonea observata, matricem valde infestans; ad caules vivos Scleriae sp.).

Matouschek (Wien).

Murrill, W. A., Collecting fungi in Jamaica. (Journ. New York Bot. Garden. Vol. 10. 1909. p. 21—39, m. 11 Bildern.)

Enthält den Bericht über eine mykologische Studienreise nach Jamaica. Die günstigste Zeit für die Entwicklung der Pilze sind die regenreichen Monate Mai und Oktober. Verf. erwähnt fast nur Hymenomycetes; folgende Gattungen werden genannt:

Gloeophyllum, Schizophyllum, Pycnoporus, Daedalea, Coriolus, Pogonomyces, Elfvingia, Armillaria, Volvaria, Lepiota, Pleurotus, Fomes, Tyromyces, Boletus, Pluteus, Hygrophorus, Tremella, Clathrus, Agaricus, Laschia. Die Arbeit ist mit Vegetationsbildern geschmückt.

Herter (Montevideo).

Keißler, Karl von, Neue Pilze von den Samoa- und Salomons-Inseln. (Ann. mycol. Vol. 7. 1909. p. 290—293.)

Das Material wurde von K. Rechinger 1905 gesammelt. Neu sind:

Hyaloderma Gardeniae (auf lebenden Blättern von Gardenia Lanutoo Rein.; von H. lateritium P. et Lag. durch nadelförmige Sporen verschieden; der Pilz findet sich in schwarzen Flecken einer Meliola-Art), H. Afzeliae (auf lebenden Blättern von Afzelia sp.), Zukalia Gynopogonis (auf gleichem Substrate von Gynopogon scandens Forst.; viel größeres Gehäuse, das Fehlen der Paraphysen, Sporen ohne Öltropfen — gute Merkmale gegenüber Z. juruana), Torrubiella brunnea (in Coccide quodam foliis Melicopis insidenti, eine gute Art), Hainesia Palmarum (in fructu Arecae Rechingerianae Becc., der erste Pilz aus dieser Gattung, der auf Palmen wächst), Gloeosporium Vandopsidis (in foliis languidis Vandopsidis sp.; schwarze Sporenhäufchen, deutliche Basidien).

Matouschek (Wien).

Dale, E., On the morphology and cytology of Aspergillus repens De Bary. (Annales mycologici. Vol. 7. 1909. p. 215—225, m. 2 Taf.)

In einer geschichtlichen Einleitung setzt Verf. die Unterschiede von Aspergillus herbariorum und Asp. repens aus einander und führt aus, was über die Morphologie beider Pilze bekannt ist. Die eigene morphologische und cytologische Untersuchung der Verf. ergab folgende Resultate:

Ein Antheridium fehlt bei A. repens in vielen, wenn nicht in den meisten Fällen. Wo es vorhanden ist, konnte in keinem Fall die Verschmelzung mit dem Ascogon sicher nachgewiesen werden. An dem als Archicarp aufzufassenden Mycelknäuel ist es unmöglich, einen Stiel, ein Ascogon und ein Trichogyn scharf zu unterscheiden. Das junge Archicarp ist, wie alle anderen Hyphen, vielkernig. Im Ascogon zeigen bei vorgeschrittener Entwicklung die Kerne beträchtliche Größenunterschiede. Dieselben sind auf die paarweise Verschmelzung der ursprünglichen Ascogonkerne zurückzuführen; die größten Kerne sind die Fusionskerne. Nachdem eine Vereinigung des Ascogons mit dem Antheridium — selbst wenn ein solches vorhanden ist — niemals stattfindet, sind die Fusionskerne sämtlich eingeschlechtig, nämlich weiblich, und die Verschmelzung stellt daher eine reduzierte Form der Sexualität dar.

Die Fusionskerne wandern in die ascogenen Hyphen ein. Der junge Ascus enthält zwei Kerne. Auch diese verschmelzen. Der hieraus resultierende Kern wächst heran, teilt sich mehrmals, bis schließlich acht Kerne vorhanden sind. Die reife Ascospore ist einkernig. Im Anschluß an diese Ausführungen erörtert Verf. die Sexualität bei anderen Ascomyceten, bei welchen ähnliche Verhältnisse beobachtet worden sind, nämlich Humaria granulata, Lachnea stercorea, Gymnoascus usw.

Neger (Tharandt).

Maire, R., et **Tison, A.,** La cytologie des Plasmodiophoracées et la classe des Phytomyxinae. (Annales mycologici. Vol. 7. 1909. p. 226—253, m. 3 Taf.)

Nach einigen einleitenden historischen Bemerkungen über cytologische Untersuchungen bei den Phytomyxinae sowie über die Technik, welche von den Verff. befolgt wurde, wird zunächst die Entwicklungsgeschichte der Sorophaera Veronicae eingehend beschrieben: Die Verff. unterscheiden im Lebenslauf dieses Organismus, der nach dem übereinstimmenden Urteil neuerer Mycologen kein echter Pilz, sondern ein Schleimpilz aus der Verwandtschaft der Plasmodiophora Brassicae ist, zwei Phasen: nämlich eine schizogone und eine sporogone Phase. Die Entwicklung beginnt mit der Anwesenheit einzelliger Myxamöben in den Parenchymzellen des Marks und der Rinde der Veronica. Die Myxamöbe teilt ihren Kern ohne sich selbst zu teilen und wird dadurch zweizellig. Durch

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

zwei weitere Teilungsschritte wird die Amöbe vier- und dann achtkernig. Durch Fragmentation zerfallen diese achtkernigen Amöben in Teilamöben (méront). Diese beginnen die gleiche Entwicklung wie die ursprünglichen Amöben indem sie ihre Kernzahl — durch Teilung — vermehren, um sich dann wieder zu fragmentieren. Dies erklärt, wie es kommt, daß man gleichzeitig Amöben in sehr verschiedenen Entwicklungsstadien antrifft, d. h. solche, welche in Spaltung begriffen sind, zugleich mit solchen, welche schon in die Sporogonphase eingetreten sind. Sehr genau wird der Vorgang der Kernteilung beschrieben und von den Autoren dahin zusammengefaßt:

Die Art der Kernteilung in den Myxamöben von Sorosphaera (und Plasmodiophora) ist eine intranucleare Mitose combiniert mit einer Amitose.

In der zweiten Lebensphase, der Sporogonphase, kommen zwei successive Teilungen zustande, welche wahrscheinlich heteratypisch bezw. homotypisch sind. Die Sporenbildung erfolgt ohne jede Art von Kopulation.

Die Wirkung des Parasiten auf den Wirt äußert sich in einer Hypertrophie der Wirtparenchymzelle, einer wiederholten (mitotischen) Kernteilung (ohne nachfolgende Zellteilung); bei sehr starkem Befall kommt es zu bedeutenden Geschwulsten, und in Folge davon zur Verkümmerung der Blüten.

Mit den bei Sorosphaera gewonnenen Resultaten werden nun die Entwicklungszustände anderer naher verwandter Organismen verglichen, nämlich Plasmodiophora Brassicae Wor., Tetramyxa parasitica Goebel, Phytomyxa leguminosarum (Frank) Schröt., Plasmodiophora Alni (Wor.) Moell., Pl. Elaeagni Schröt., Tylogonus Agaves Miliarakis, Pseudocommis Vitis (Vial. et Sauv.) Debray.

Tylogonus Agaves aber, von Lindau zu den Phytomyxinae gestellt, ist nichts anderes als ein Degenerationsprodukt von gummiöser Konsistenz, welches gewisse Zellen der Agave erfüllt. Auch Pseudocommis Vitis, bisher als Plasmodiophoracee betrachtet, ist kein Organismus, sondern, wie Tylogonus, ein Produkt der Degeneration gewisser Zelleinschlüsse. Beide sind daher aus der Reihe der Lebewesen und damit aus dem Kreis der Plasmodiophoraceen zu streichen.

Andererseits sind Phytomyxa Leguminosarum, Plasmodiophora Alni und Pl. Elaeagni unzweifelhaft Schizomyceten, die beiden letzten müssen daher einen anderen Namen erhalten, nämlich: Frankia Alni und F. Elaeagni. Die bisherige Familie der Phytomyxaceae umschloß demnach sehr heterogene Dinge und der Name muß zu Gunsten des älteren „Plasmodiophoraceae“ fallen.

Echte Plasmodiophoraceae sind daher nur Plasmodiophora, Sorosphaera und Tetramyxa, welche sich durch folgende Merkmale unterscheiden: Plasmodiophora: Sporen frei, Sorosphaera: Sporen zu Kugeln vereinigt, Tetramyxa: Sporen zu Tetraden vereinigt. Der verwandtschaftliche Anschluß der Plasmodiophoraceen ist einerseits bei den Myxomyceten, andererseits bei den Sporozoen zu suchen. Alle drei stammen wahrscheinlich von den Flagellaten ab.

Neger (Tharandt).

Schikorra, Walter, Über die Entwickelungsgeschichte von Monascus. (Zeitschr. f. Bot. Bd. 1. 1909. p. 379—410. mit 1 Taf. u. 3 Textfig.)

Die abweichenden Angaben der einzelnen Autoren über die Entwicklungsgeschichte der Gattung Monascus veranlaßten Verf. zur vorliegenden Arbeit. Untersucht wurden zwei Arten: Monascus purpureus Went. und ein Monascus, der auf Reisstärke gefunden wurde, dessen Zugehörigkeit jedoch noch fraglich erscheint; vermutlich ist es eine neue Art. Beide Formen zeigen eine ganz ähnliche Entwicklung, die ausführlich bei jeder Art beschrieben wird.

Die Fruchtkörperbildung wird durch eine an einer Seitenhyphe abgetrennte Endzelle eingeleitet. Hieraus wird später das Antheridium, das 4 bis 8 Kerne enthält. Unterhalb der Trennungswand des Antheridiums von der Hyphe wächst eine Vorstülpung hervor, die sich nachher in zwei übereinander liegende Zellen teilt. Die obere ist die Trichogyne und enthält 3 bis 4 Kerne, die untere stellt das Ascogon dar mit 4—6 Kernen. Antheridium und Trichogyne wachsen aufeinander zu und treten nach Lösung einer Stelle der Zwischenwand in offene Kommunikation. Alle ♂ Kerne wandern hierauf in die Trichogyne, deren Kerne schon vorher zugrunde gegangen sind. Damit die Antheridialkerne aber in das Ascogon gelangen können, wird die Trennungswand zwischen Trichogyne und Ascogon resorbiert. Antheridium und Trichogyne sind nun zwecklos geworden und fallen zusammen. Je ein ♂ Kern legt sich im Ascogon an einen ♀ Kern, aber eine Kernverschmelzung tritt in diesem Stadium nicht ein. Die gepaarten Kerne vermehren sich durch konjugierte Teilung. Während dieser Zeit wachsen am Grunde des Ascogons Hüllhyphen hervor, die sich verzweigen und schließlich eine zweischichtige Hülle um die ganze Fruchtanlage bilden, welche die Beobachtung sehr erschwert. Die ascogenen Hyphen krümmen sich am Ende hakenförmig, sobald sie die definitive Länge erreicht haben. Sie besitzen ebenfalls paarige Kerne. Der eine, am Ende gelegene Kern wandert in die Hakenspitze, der andere bleibt im Stil des Hakens liegen. Beide Kerne teilen sich dann und je ein Teilkern, also ein ♂ und ein ♀ wandert in die Hakenkrümmung ein und hier verschmelzen sie miteinander zum primären Ascuskern. Hierauf entwickelt sich ein kugeliger Ascus und in ihm bilden sich breitellipsoidische Sporen. Die Entwicklung konnte im einzelnen nicht verfolgt werden, der Kleinheit des Objektes wegen. Die Sporen liegen zu 8 im Askus, sie sind einkernig. Bei der Sporenreife löst sich die Ascuswand auf und die Sporen liegen dann frei im Perithecium, aus welchem sie durch Zerfall der Hülle nach außen gelangen.

Es bestehen also weitgehende Übereinstimmungen zwischen den Kernverhältnissen bei Pyronema confluens und den Monascus-Arten.

Die Arbeit schließt mit einer kritischen Besprechung der Verwandtschaftsverhältnisse der Monascus-Arten mit anderen Pilzen, wobei Verf. zu dem Schlusse geführt wird, daß Monascus zu den Ascomyceten und zwar zur Ordnung der Plectascineen gehöre, innerhalb welcher sie wegen der Ähnlichkeit mit Aspergillus und Penicillium zu der Familie der Aspergillaceen zu stellen sei.

K. Müller (Augustenberg).

Zach, F., Über den in den Wurzelknöllchen von Elaeagnus angustifolia und Alnus glutinosa lebenden Fadenpilz. (Sitzungsber. d. kaiserl. Akad. d. Wissensch. Math.-natw. Kl. Bd. 117. Abt. I. 1908. p. 973—983. M. 1 Doppeltafel.)

Die Hauptresultate sind:

1) Der Fadenpilz in den oben genannten Knöllchen ist gleicher Art.

2) Freihandschnitte konnten am besten mit Chlorzinkjod, Anilin-Safranin behandelt werden. Das von Björkenheim gebrauchte Zielsche Karbolfuchsin bewährte sich nur bei Mikrotomschnitten von 3 μ Dicke in bester Weise. Andere Methoden, die aufgezählt werden, brachten auch gute Resultate.

3) Der Pilz ist sicher ein echter Hyphomycet (Schinzia Alni Woronin, Frankia subtilis Brunchorst).

4) Das von Shibata bemerkte Zerfallen der Fäden in verschieden lange, gerade oder gekrümmte Stäbchen deutet Verf. wie folgt: Die Stäbchen sind kontrahierter Plasmainhalt, der sich mit Methylenblau stark färbt, während die Hyphenmembran diesen Farbstoff nur schwach annimmt und deshalb nur allzuleicht übersehen werden kann. Auch die von Shibata beobachteten „sporenähnlichen Knötchen" dürften so zu deuten sein. Verf. sah bakterienähnliche, längere Stäbchen ganz anderer Art: sie traten in sehr großer Zahl auf und waren stets in einer hellen homogenen in Wasser anscheinend aufquellbaren schleimartigen Grundmasse, welche das ganze Zellumen erfüllte. Man hat es wohl mit einem Stadium des Verdauungsorganes zu tun (siehe weiter unten).

5) Die terminalen Anschwellungen der Hyphen, die Bläschen dürften wohl, wie es Shibata bereits angegeben, Degenerationsformen des Pilzes sein.

6) Verdauung des Pilzes durch die Wirtszelle. Die Pilzfäden und Bläschen werden vom Plasma der Wirtszelle verdaut. Die Pilzklumpen werden in den Zellen vielfach verändert und degeneriert. Neben den Klumpen befinden sich eigenartige runde oder ovale Körper von ölartiger Konsistenz, vom Verf. Exkretkörper genannt. Sie sind im jüngsten Stadium ölartig, gelblich gefärbt, später verfestigen sie sich unter zunehmender Bräunung, bis sie hornartig und dunkelbraun gefärbt werden. Jetzt sind diese Körper nicht mehr in Alkohol und Chloroform löslich, durch H_2SO_4 werden sie geschwärzt, von HCl, HNO_3 und Kalilauge nicht angegriffen. Die Gestalt der Exkretkörper ist eine sehr mannigfaltige. Die Fadenknäuel des Pilzes werden vom Plasma der Wirtszelle verdaut. Die oben besprochenen bakterienähnlichen Stäbchen sind als in Auflösung begriffene fragmentierte Hyphen zu deuten. Die hierbei offenbar durch den Verdauungsakt aus den Hyphen entstandene schleimähnliche Grundmasse, die nach dem Verschwinden des Pilzes die Zelle erfüllt, wird dem Anscheine nach resorbiert, während die unverdaulichen Reste übrig bleiben. Auf jeden Fall sind letztere „Exkretkörper", da sie exkrementiert werden. Die von Shibata geschilderten „Sekretkörperchen" sah Verf. nie; ob sie mit den „Exkretkörpern" identisch wären, ist fraglich. Matouschek (Wien).

Gruenberg, B. C., Some aspects of the mycorrhiza problem. (Bull. of Torrey Bot. Club. Vol. 36. 1909. p. 165—169.)

Eine Zusammenstellung der Mykorrhiza-Fragen. In fast allen Gruppen des Pflanzenreichs sind Wurzelpilze beobachtet worden, aber in keiner Familie sind sämtliche Arten mit einem solchen versehen. Es konnte bisher für keine Mykorrhiza die Zugehörigkeit zu einer Pilzgruppe mit Sicherheit festgestellt werden. Die Art des symbiotischen Verhältnisses ist sehr verschieden; ob ein wahrer Mutualismus besteht, ist zweifelhaft. Die Behauptung, daß Corallorhiza keine Stomata besäße, widerlegt Verf. Er konnte bei dieser Orchidee zahlreiche Spaltöffnungen an allen Teilen beobachten. Auch für die Praxis sind einige Punkte des Mykorrhiza-Problems von Bedeutung: Die Rolle der Mikorrhiza beim Umpflanzen von Bäumen, bei der Aufforstung, bei der Knollenbildung, bei der Bodennitrifikation.

Herter (Montevideo).

Peklo, Jaroslav, Beiträge zur Lösung des Mykorrhizaproblems. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 27. 1909. p. 239—247.)

Die Arbeit handelt über Versuche, welche mit epiphytischer Mykorrhiza von Carpinus und Fagus, sowie mit endophytischer von Alnus glutinosa und Myrica Gale angestellt wurden.

Carpinus-Mykorrhizen in Paraffin eingebettet, gefärbt und mit dem Mikrotom geschnitten, zeigten große, aufgeblähte Hyphen zwischen den peripheren Zellen des Mutterwürzelchens. Diese Hyphen zeigen die Reaktionen gerbstoffähnlicher Körper, enthalten also wahrscheinlich Glykogen. Ebenso ist bei Fagus die Hyphenschicht an der Stelle, wo sie an das Wurzelgewebe angrenzt, damit angefüllt.

Verf. erklärt sich die Verhältnisse so: Die Wirtspflanzen vermehren zur Abwehr gegen den eindringenden Pilz ihren Gerbstoffgehalt. Der Pilz hat sich jedoch daran angepaßt, vermag den Gerbstoff aufzunehmen und sogar als Nährstoffquelle zu verwerten.

Um den Mykorrhizapilz zu isolieren, kochte Verf. Mykorrhizen und benutzte das sterilisierte Dekokt als Kulturflüssigkeit; hierdurch werden andere Pilze im Wachstum stark gehemmt, während die Mykorrhizapilze in dem Medium sich gut entwickelten und Konidien bildeten.

Die reingezüchtete Pilzart aus Carpinus-Wurzeln war nun ein Penicillium, welches einer von Oudemans beschriebenen Spezies geophilum sehr ähnlich war. Auch bei Fagus erhielt Verf. auf dieselbe Weise Penicillium- und zwar in mehreren Fällen eine Citromyces-Art, so daß diese vielleicht häufiger an der Mykorrhizenbildung teilnimmt.

Mit den reingezüchteten Pilzen wurden Infektionen an zweijährigen Buchen ausgeführt, welche in steriler Erde gepflanzt waren und zwar diente als Infektionsmaterial einmal eine Citromyces-Art, das andere Mal eine Penicillium-Art. Beide hatten nach einem halben Jahre die Buchen infiziert. Es nehmen also sicher mehrere Schimmelpilze an der Mykorrhizabildung in Buchenwäldern teil.

Von den Alnus-Anschwellungen wurden zweierlei Formen studiert. Die Mykorrhiza der Myrica Gale stammte von einem Treibhausexemplar.

Die Knöllchen von Alnus wurden abgetrennt und in einer an Kalisalzen sehr reichen, sterilen Flüssigkeit zerquetscht. Sie wuchsen darin gut. Mit den Pilzen konnten wieder Erlen infiziert werden. Ebenso gelang es einen Actinomyces aus Myrica zu isolieren und rein zu züchten. Über diese Pilze und ihre physiologischen Eigenschaften stellt Verf. eine ausführliche Arbeit in Aussicht. K. Müller (Augustenberg).

Peklo, Jaroslav, Die epiphytischen Mykorrhizen nach neuen Untersuchungen. I. Monotropa, Hypopitys L. (Bull. internat. de l'Acad. d. scienc. d. Bohême. Prague 1908. 22 pp. des Separatabdruckes, m. 1 Taf. u. 5 Textfig.)

Die Hauptresultate sind folgende: Das Wurzelgeflecht von Monotropa tritt in zweierlei Formen auf, je nachdem es in lehmigem oder humösem Substrat vegetiert. Ihre Unterschiede hängen eng mit der Infektionsstufe seitens des Mykorrhizopilzes zusammen. Bei der ersten Form treten die Mykorrhizen weit in den Hintergrund, ja sie können auch ganz fehlen. Die andere Form erweist sich konstant mykorrhizaführend. Die Mykorrhizen sind (nach Küsters Definition) als Gallen anzusprechen, die zwar primitiv aufgebaut sind, dafür aber instruktiv ihre Entstehung verraten. Von Hyphen aus werden Haustorien entsendet, welche in epidermale noch im Dermatogenzustand sich befindende Zellen eindringen und dieselben reizen, indem sie ihnen Nährstoffe entziehen, welche dann zum Aufbau des Pilzmantels gebraucht werden. Die Epidermis wird folglich nicht abgeworfen, wie es bei normalen und nicht genug infizierten Würzelchen geschieht, sondern bleibt erhalten und konstituiert ein Nährgewebe, in welchem aber zugleich große Gerbstoff-Vakuolen dem Pilze Grenzen setzen. Die Mykorrhiza ist nur für die humösen Exemplare notwendig. Ihre Bedeutung liegt in folgendem: Die Hyphen zersetzen Humuslösungen, die durchsickernd zu den Würzelchen gelangen. Nachdem diese die lockere Mantelstruktur wie einen Orchideen Voile, durchdrungen haben, werden sie von der Wurzeloberfläche selbst elektiv absorbiert. Matouschek (Wien).

Lemon, A. H., A new ordinance to prevent the introduction of pest into the colony. (Agric. Bull. of the Straits and Federated Malay States. Vol. 7. 1908. p. 613—614.)

Im September 1908 ist für Straits Settlements ein Gesetz erlassen worden, in welchem die Einfuhr von Pflanzen, die mit Insekten-, Pilz- und anderen Krankheiten behaftet sind, verboten und der Überwachungsdienst geregelt wird. Herter (Montevideo).

Delacroix, G., Maladies des plantes cultivées. I. Maladies non parasitaires. XII et 431 pp. et 58 pl. Paris (J. B. Baillierè) 1908.

Verf. hatte für die „Encyclopédie agricole de G. Wery“ zwei Bände über Krankheiten der Kulturpflanzen vorbereitet. Den vorliegenden I. Teil konnte Verf. noch redigieren. Er zerfällt in 3 Teile. Der erste Teil befaßt sich über die Krankheiten der Pflanzen im allgemeinen, mit der Methode der vegetalen Pathologie im Vergleiche zur tierischen und bringt typische Beispiele aus dem Gebiete der Teratologie und zwar Fasziationen, Albinismus, Vergrünung, Viviparität und Pelorie (etwa 30 Seiten). Der zweite Teil befaßt sich mit Verwundung, Vernarbung, Callusbildung, Erzeugung von Kork und Gummi. Dann erläutert er den Einfluß von Wärme, Kälte, Licht, Boden, Trockenheit und Feuchtigkeit, Gift, später erst die Krankheiten, deren Ursache komplizierter Natur oder unsicherer Natur ist. Zu letzterem zählt er z. B. die Intumeszenzen, den nicht durch parasitäre Organismen erzeugten Rost, die Chlorose, den Fluß, das Braunwerden. Der dritte Teil (wie der vorige etwa 100 Seiten) erläutert im allgemeinen die Krankheiten parasitärer Natur und bereitet zum zweiten Teile des Gesamtwerkes vor. —

Von den allgemein leitenden Gesichtspunkten bezüglich des vorliegenden I. Teiles läßt sich folgendes sagen: Erläuterung des Begriffes Parasitismus und Symbiose, Cecidienbildung, die notwendigen Parasiten, die der Wunde, die fakultativen Parasiten und die Saprophyten. Beispiele für unmittelbare und mittelbare Ansteckung. Die Erfahrungen auf dem Gebiete der Chemotaxis (G. Massee), die normale und abnormale Prädisposition, Wirkung des Düngers und ähnlicher Stoffe, die oft keine Immunität gegen gewisse Pilze hervorbringen, die schützende Wirkung der Zellhaut, die parasiticide Wirkung als Verteidigungsmittel der Pflanze. Schaffung von Rassen, die widerstandsfähiger sind. Behandlung der Krankheiten: vorbeugende Maßregeln, die Vernichtung der Krankheit, die Behandlung der befallenen Gewächse, Desinfektion des Bodens und des Samengutes. Besondere Berücksichtigung bezüglich der gebräuchlichen der Kupfer- und Schwefelpräparate.

Matouschek (Wien).

Delacroix, G., et **Maublanc, A.**, Maladies des plantes cultivées. II. Maladies parasitaires. 452 pp. et 83 pl. Paris (J. B. Baillière) 1909.

Nach geschichtlichem Rückblicke werden weniger die Krankheiten als die Pflanzen selbst betrachtet, welche Kulturpflanzen und deren Produkte (z. B. Holz) befallen. Es werden berücksichtigt die saprophytischen Pilze und Phanerogamen, die Bakterien und Epiphyten. Das Verzeichnis solcher schädigenden Pflanzen ist recht groß. Auf Details und bibliographische Notizen wird nicht eingegangen. Doch erfährt der Landwirt stets alles Brauchbare, da die Verf. nur an Hand der modernsten und praktisch erprobten Resultate der diversen Forscher ihm Winke bezüglich der Ursache und Bekämpfung der Krankheit erteilen. — Die von Madame G. Delacroix entworfenen Tafeln sind sehr instruktiv gehalten, weil sie sich an die besten Originale halten und künstlerisch ausgeführt sind. Auf 6 Seiten wird eine Bestimmungstabelle bezüglich der Krankheiten entworfen.

Matouschek (Wien).

Köck, G., Über drei kryptogamische Erreger beachtenswerter Pflanzenkrankheiten. (Pseudoperonospora cubensis, Sphaerotheca Mors uvae und Fusarium sp. (Verhandl. d. k. k. zool.-bot. Gesellsch. in Wien. Bd. 59. 1909. p. 48—57.)

1) Pseudoperonospora cubensis. Geschichtlicher Überblick über das Auftreten der Krankheit. Systematische Stellung. Da große Schwankungen in der Größe der Konidien vorkommen und anderseits die Größe der Konidien von den äußeren Lebensbedingungen, unter denen der Pilz fruktifiziert, abhängig ist, so kann sich der Verf. für die von Rostowzew neu aufgestellte Varietät tweriensis nicht erwärmen. Versuche des Verf. ergaben bezüglich der Widerstandsfähigkeit der Cucurbitaceen-Arten gegen den jetzt in Österreich allgemein verbreiteten Pilz folgendes: Sie ist bei Cucurbita Pepo größer als bei Cucumis Melo und bei diesem wieder größer als bei Cucumis sativus, was wahrscheinlich in dem stärkeren mechanischen Bau der Kürbis- oder Melonenblätter gegenüber den Gurkenblättern begründet sein dürfte. Versuche mit 76 Sorten von C. sativus zeigten, daß die Empfänglichkeit der einzelnen Sorten eine sehr verschiedene ist, was auch auf den oben angegebenen Grund zurückzuführen ist. Die Klettergurken zeigten sich als die am meisten widerstandsfähigen. Kupfervitriolkalkbrühe in 1 proz. Konzentration hat sich zur Bekämpfung des Schädlings vortrefflich bewährt, dagegen haben Bodendesinfektion und auch Samenbeize ganz versagt. Es traten aber bei den Bespritzungen mit Kupfervitriolkalk Schädigungen der bespritzten Gurkenpflanzen ein, der Ernteertrag war ein geringerer. Ursache: Verminderung der Transpiration und Assimilation der Blätter und Verhinde-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

rung der Nichtbefruchtung von Blüten. Es muß das $CuSO_4$ in anderer Konzentration oder Form verwendet werden.

2) Sphaerotheca Mors uvae. Von drei Zentren aus ging ursprünglich die Infektion aus: Sie lagen in Irland, Dänemark und Rußland. Von dort wurden Sträucher bezogen. Daher die weite Verbreitung des Pilzes. In Ungarn, Frankreich und Holland tritt er bis jetzt noch nicht auf. In Österreich befällt der Pilz am meisten die Sorte Whinhams Industry von Ribes grossularia, tritt aber nie auf eingesprengten anderen Ribes-Arten auf, trotzdem er in Nordamerika auf letzteren auch konstatiert wurde. Bespritzen mit 2-proz. Kupfervitriolkalkbrühe erwies sich als bestes Gegenmittel.

3) Blattrollkrankheit der Kartoffel. Genaues Bild der Krankheit. Ansicht des Verf.: Infektion findet wohl durch einen pilzparasitären Organismus statt, die äußeren Faktoren (Witterung, Bodenverhältnisse) haben eine größere Nebenwirkung, als Appel annimmt. Die Krankheit nimmt in Deutschland und Österreich einen epidemienhaften Charakter an. Versuche im großen zur Klarlegung sind vom Verf. vorbereitet.

Matouschek (Wien).

Hauman-Merck, L., et **Devoto, J. A.**, Enfermedades de las plantas cultivadas, observadas en los alrededores de la Capital Federal en los annos 1906—1908. (Boletín del Ministerio de Agricultura Buenos Aires. Vol. 10. 1908. p. 98—113.)

Die vorliegende Arbeit ist die erste Zusammenstellung von Pflanzenkrankheiten aus Argentinien und bildet mit der ein halbes Jahr vorher erschienenen Abhandlung des Ref. aus Uruguay die erste Grundlage für phytopathologische Literatur in Südamerika. Verf. fand folgende Parasiten:

Cystopus cubicus auf Salsifis (Tragopogon); C. ipomaeae panduranae auf der süßen Batate (Ipomaea); C. candidus fand Verf. nur auf Capsella bursa pastoris; Plasmopara viticola auf der Weinrebe; Peronospora parasitica auf Kohl; P. trifoliorum auf Luzerne; P. effusa auf Spinat.

Oidium Tuckeri ein Mal auf der Weinrebe; Erysiphe communis auf Bohnen; E. graminis ein Mal auf Hafer; Sphaerotheca pannosa auf Rosen; Apiosporium salicinum auf Pfirsich; Rußtau auf Chrysanthemum, Olive, Zitrone, Camellia; Guignardia Bidwelli? auf der Weinrebe; Sclerotinia Libertiana auf Bohnen; Exoascus deformans auf Pfirsich, Pseudopeziza medicaginis auf Luzerne.

Rost auf Weizen und Hafer; Puccinia sorghi auf Mais; P. pruni auf Pfirsich, Kirsche; P. malvacearum auf Althaea rosea, Malva parviflora, Modiola caroliniana; P. chrysanthemi auf Chrysanthemum; Uromyces fabae auf Vicia faba; U. phaseoli auf Bohnen, sehr gefährlich; U. striatus auf Luzerne; Phragmidium subcorticium auf Rosen; Melampsora populina auf Pappel; Ustilago tritici auf Weizen; U. Jensenii auf 4zeiliger Gerste; U. maydis auf Mais; U. sorghi auf Sorghum; U. panici miliacei auf Sorghum; U. bromivora auf Bromus unioloides, B. mollis.

Gloeosporium ampelophagum auf der Weinrebe; Septoria petroselini var. apii auf Apium; S. tritici auf Weizen; Cercospora beticola auf Futterrübe; C. Bloxami auf Kohlrübe.

Mycoidea parasitica? auf Blättern von Magnolia.

Cuscuta auf Luzerne.

Tierische Schädlinge: Phytophtus vitis auf der Weinrebe; Tetranychus auf Tomate; Schizoneura lanigera auf Apfel; Pemphigus bursarius? auf Pappeln; Aphis persicae? auf Pfirsich; Aphis brassicae? auf Kohl.

Herter (Montevideo).

Köck, G., Bakterien als Pflanzenschädlinge. (Monatshefte f. Landwirtsch. Jg. 2. 1909. p. 247.)

Verf. bespricht einige Pflanzenbakteriosen, bei denen es mit Sicherheit feststeht, daß Bakterien als primäre Erkrankung angesprochen werden müssen. Wirtschaftlich von größter Bedeutung sind die Bakterienkrankheiten der Kartoffelknollen, durch deren Erreger es teils zur Trockenfäule, teils zur typischen Naßfäule kommt. In letzter Zeit ist als neu die sogenannte „Bakterienringkrankheit" hinzugekommen. Auch die schon lange bekannte „Schwarzbeinigkeit" der Kartoffeln ist eine Bakterienkrankheit. Bakterienkrankheiten sind ferner an Tomatenfrüchten, Speisezwiebeln („Rotz") und an Hyazinthen zu beobachten. Die Rotzkrankheiten der Hyazinthenzwiebeln haben als primäre Ursache das Auftreten von Pseudomonas Hyacinthi, während Hypomyces Solani und Penicillium glaucum nur als Begleiterscheinungen aufzufassen sind. Die durch Bacillus Hyacinthi septicus an Hyacinthen hervorgerufene Bakterienkrankheit ist von der Rotzkrankheit ganz verschieden. In Rhizomen und jungen Trieben von Schwertlilien wurden drei Spaltpilze (Bacillus omnivorus, Pseudomonas Iridis und P. fluorescens-exitiosus) gefunden, doch handelt es sich hier um keine einheitliche Krankheit. Eine wahrscheinlich identische Krankheit wurde an den Rhizomen von Iris pallida beobachtet. Ein als Bacillus aroideae diagnostizierter Spaltpilz ruft an den Knollen, Blatt- und Blütenstielen von Callaarten Fäulniserscheinungen hervor. Bacillus carotovorus bewirkt eine Möhrenkrankheit und ein anderer Spaltpilz (Bacillus Apii) eine Selleriebakteriose. Eine ganze Reihe von Bakterienkrankheiten sind auf den Kohlarten bekannt. Pseudomonas campestris verursacht die Braunfäule des Kohles und ein Spaltpilz derselben Gattung (Psoudomonas destructor) ist der Erreger der sogenannten Weißfäule der weißen Rüben. Von besonderer landwirtschaftlicher Bedeutung sind die Bakteriosen der Futter- und Zuckerrüben. Die als Rübenschwanzfäule, bakteriose Gummosis oder Bakteriose bekannte Krankheit wird durch Bacillus Betae verursacht. Pseudomonas Stewarti ist der Erreger der Welkkrankheit des Mais, die zu einem vollständigen Vertrocknen der Pflanze führt. Bacillus Zeae ruft das Verfaulen der Blattscheiden und schließlich des Vegetationsscheitels des Maises hervor. Micrococcus tritici färbt schon geerntete Weizenkörner rosenrot. Auf jungen Bohnenfrüchten auftretende Flecken werden dem Bacillus Phaseoli zugeschrieben. Bacillus tracheiphilus verursacht an Gurken eine Welkekrankheit. Der Spaltpilz Bacillus amylovorus ruft an Birnbäumen, Äpfelbäumen, Quitten, Holzäpfeln und anderen Holzgewächsen wie Weißdorn und Bergesche ein in Nordamerika als „pear blight" bekannte Krankheit hervor, die wahrscheinlich auch bei uns hie und da auftritt. Die Bakteriose der Kirschbäume wird als „Bakterienbrand" bezeichnet, und sind hier zwei in den erkrankten Geweben der Stämme und Zweige vorkommende Bakterienarten tätig. An Pfirsichbäumen verursacht Clostridium persicae tuberculosis die Bakterienknotenkrankheit. Auf dem Weinstock treten einige Bakterienkrankheiten auf. So verursacht Bacillus uvae das vollständige Eintrocknen der jungen Früchte und Fruchtstiele. Zu den Bakterienkrankheiten des Weinstockes wird auch das in Südfrankreich und Italien vor einigen Jahren stark aufgetretene „Mal nero" gerechnet, eine Krankheit, über welche noch sehr wenig

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Klarheit herrscht. Die Bakteriose des Maulbeerbaumes, krebsartige Wunden erzeugend, wird durch Bacterium Mori (Bacillus Cubonianus) hervorgerufen. Krebsentartungen auf Maulbeerzweigen werden noch durch zwei Bacteriumarten hervorgerufen, von denen der eine gleich dem Erreger des „Mal nero", der andere als Bacillus Moro carneus beschrieben worden ist. Fäulniserscheinungen junger Fliederzweige sind auf Pseudomonas Syringae zurückzuführen.

Außer den genannten Bakteriosen gibt es noch eine große Zahl anderer mehr oder weniger zweifelhafter Bakterienkrankheiten, die sicherlich bei weiterer Forschung noch eine bedeutende Vermehrung finden werden. Eine direkte Bekämpfung dieser Pflanzenfeinde ist wohl unmöglich; die Bekämpfung ist rein prophylaktisch. Als wichtigste allgemeine Maßregeln wären zu nennen: Vermeidung von Verletzungen jeder Art, richtige Behandlung aller Wundstellen (bei Holzgewächsen), Vernichtung der erkrankten Pflanzen oder Pflanzenteile, eventuell Fruchtwechsel bei Bodenverseuchung, Saatgutbeize, Wahl widerstandsfähiger Sorten. In speziellen Fällen müssen sich die Vorbeugungsmaßregeln oder die Mittel zur Verhinderung eines weiteren Ausbreitens der Krankheit nach der Natur der Wirtspflanzen und nach der Natur des Krankheitserregers richten. Stift (Wien).

Brick, Einige Krankheiten und Schädigungen tropischer Kulturpflanzen. (6. Jahresbericht 1908 der Vereinigung für angewandte Botanik. Berlin 1909.)

An Kakaobäumen tritt vielfach ein Sterben der Äste auf. Sekundär treten an diesen ein Hymenomycet und ein Pilz der Gattung Hendersonia auf, die nur Bewohner der äußeren Rindenschichten sind. An Längsschnitten der toten und sterbenden Zweigpartien findet man im Rindengewebe und Schleimbehältern hyaline septierte Hyphen, aus der Rinde brechen hier und da hellrötliche Polster von zahllosen sichelförmigen Konidien. Dieser Pilz, ein Fusarium, bewirkt das Zweigsterben. Dasselbe ist vielleicht die Fusariumform einer Nectriaart; um so mehr, als für den Kakaokrebs, bei Nectria Theobromae und Calonectria flavida auch Fusariumformen gefunden worden sind. Vortragender beschreibt den Pilz als Fusarium decemcellulare nov. spec. ausgezeichnet durch die langen, vielkammerigen Sporen. Zur Bekämpfung des Fusariumsterbens ist Ausschneiden und Verbrennen der toten und erkrankten Kakaozweige nötig.

Kakaosämlinge zeigten am Stengel, zumal am hypokotylen Glied, braune Flecke, auch der Querschnitt der Rinde ist darunter gebräunt, in den Zellen finden sich Pilzfäden. Urheber ist eine Pestalozzia. Zur Bekämpfung dienen Luft und Licht, sowie Vernichten der P. Guepini, sowie der P. palmarum an ihren sonstigen Wirtspflanzen.

An Kakaowurzeln in Samoa tritt ein Pilz: Hymenochaeta noxia Berk. auf, der meist zum Tode des Baumes führt. Ein von Zimmermann auf Kaffeebäumen aus Java beschriebener „brauner Wurzelschimmel" stimmt anscheinend mit Hymenochaete noxia überein. Auch aus Ceylon wurde über das Auftreten einer auf Hevea brasiliensis heimischen Hymenochaete an Kakaowurzeln berichtet. Die Bekämpfung ist auf Verhinderung weiterer Ausbreitung des Pilzes im Boden beschränkt, durch Sammeln und Verbrennen der befallenen Teile und Bodendesinfektion.

Rindenkranke Kaffeebäume aus Guatemala zeigten in der kranken Rinde und deren Rissen zahlreiche Nectriaperithecien. Es handelt sich um Nectria Behuiskiana, die aber hier nur ein Bewohner der abgestorbenen Rinde ist. In der schwarzen Masse, die in der toten Rinde und in den Rissen beobachtet wurde, zeigte sich ein anderer Pilz, und zwar Rostrella coffeae. Zur Bekämpfung dient gründliches Ausschneiden der erkrankten Rindenstellen und Verstreichen der Schnittflächen mit Teer. Wunden sind möglichst mit einem schützenden Anstrich zu versehen.

Die Mucedinee Pellicularia koleroja kann in Guatemala zu einem Ausfall an ¼ der Kaffeefruchternte führen, sie ist übrigens für Guatemala neu. Zur Bekämpfung ist das Sammeln und Verbrennen der kranken Blätter zu empfehlen. Auch Spritzen mit Kalkwasser und Kupferkalkbrühe ist vorteilhaft. Auch Stilbella (Cooke) Lindau erwähnt der Vortragende an Kaffeeblättern aus Guatemala.

In Bibundi wurden die Stämme und Äste des Kolabaumes durch die Larven des Kolakäfers Phosphorus gabonator Thoms. geschädigt. Die oberen Astenden brechen durch diese Schädigung meistens ab. Äußerlich zeigt sich eine enorme Gummiabscheidung. Manche Bäume sind bis zu den Wurzeln ausgehöhlt. Der Käfer, dessen Beschreibung der Vortragende bringt, ist ein Bockkäfer, der in Bibundi durch Sammeln und Ausschneiden der Larven bekämpft wird. Vortragender empfiehlt das Einträufeln von Schwefelkohlenstoff in die Fraßgänge und Verschließen der Gangöffnung mit Lehm.

An den Pfahlwurzeln und unteren Stammteilen von Parakautschukbäumen, sogenannten Hevea-stumps, zeigten sich rundliche wollig behaarte oder kahle und dann warzige kohlige Pilzpolster. An Querschnitten der Pfahlwurzel erstreckt sich eine graublaue Färbung keilförmig von der Rinde bis ins Mark. In sämtlichen Zellen des Holzes wachsen dunkelgraubraune Hyphen. Die erwähnten Polster bestehen aus von Pilzgeflecht umhüllten zu einem Stroma vereinigten Pykniden. Der Pilz gehört zur Gattung Lasiodiplodia der Sphaeropsidales, und zwar ist es L. nigra.

Von dem oben erwähnten Hymenochaete noxia wird auch Castilloa ergriffen.

An jungen Kickxia-Pflanzen in Kamerun wird die Rinde durch Schnecken (Limicolaria aurora Jay) abgefressen. Man schützt sich in Kamerun durch einen Schutzring von Holzasche, der so lange hilft, als die Asche trocken bleibt.

Agavenblätter werden in Deutsch-Ostafrika durch Achatina-Schnecken geschädigt, Achatina fulminatrix und vielleicht A. craveni. Die Schädigungen sind übrigens nicht bedeutend.

In Guatemala schädigte im Jahre 1906 der Zuckerrohrbohrer Diatraea saccharalis Fabr. 5—8 Proz. des Zuckerrohres. Bekämpft wird diese Motte durch Verbrennen und Vernichten aller Rohrabfälle, auch sollte Mais und Zuckerrohr auf vorher befallenen Feldern nicht gepflanzt werden.

Marshall (Halle a. S.).

Graebner, P., Beiträge zur Kenntnis nichtparasitärer Pflanzenkrankheiten an forstlichen Gewächsen. 3. Wirkung von Frösten während der Vegetationsperiode. (Zeitschr. f. Forst- u. Jagdw. Jg. 41. 1909. p. 421—431, m. 4 Textfig.)

In der Heide treten bekanntlich während des Frühlings und Sommers

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

unzeitige Fröste oft auf. Die besonders exponierten Bäume zeigen neben der durch das häufige Abfrieren der Zweigspitzen hervorgebrachten Vielästigkeit und Kurzzweigigkeit namentlich einen starken Flechtenbehang. Letzterer bringt starke Deformationen (besonders der Atmungsorgane) mit sich. Verf. untersucht nun genau, wo und wie sich Flechten an der Eiche ansiedeln können; hierbei werden die verschiedenen Arten des Erfrierens erläutert. Es handelt sich da um erfrorene Teile des Kambiums und Rindenparenchyms nächst der Blattknospen, um Verjüngung durch Seitentriebe, um einseitig auf die Frostseite entstehende Überwallungswülste, um die Bildung von Längsspalten. Es treten Erscheinungen auf, die an den Krebs und den Astwurzelkrebs erinnern. Während die Eiche gegen Frost auf der Heide sehr empfindlich ist, ist die Buche widerstandsfähiger, da hier niemals älteres als einjähriges Holz angefroren war. Daher ist der Flechtenbehang auch ein geringerer. Die neugebildeten Ersatzzweige der Buche waren viel schlanker und dienten besser dem Ersatze der natürlichen Tracht der Pflanze, besonders da einseitig erfrorene Zweige hier völlig zugrunde gehen. Durch frühzeitig im Herbste eintretende Fröste wird bei der Buche die später die Trennungsschicht zwischen Rinde und abgestorbenen Blättern bildende Zellgruppe, welche die Abstoßung des Blattes bewirken soll, getötet, so daß die Blätter während des folgenden Sommers hängen bleiben. — Was die Nadelhölzer betrifft, so konnte Verf. feststellen: 1) Die Lärche ist so empfindlich gegen Frost wie die Eiche. Die Tanne leidet stärker als die Fichte. Bei diesen beiden Baumarten sowie bei Picea pungens und Pseudotsuga taxifolia, welche insgesamt viel regenerationsfähiger als die Laubhölzer sind, kann man an vorjährigem Holze keinen Frostschaden mehr nachweisen. Nur in den schlechtesten Lagen findet man auch an der Kiefer den Krebs. 2) Die Kiefer muß bei Neuaufforstungen stets die führende Holzart sein, da sie gegen Frost am widerstandsfähigsten ist. Die Bildung von reinem Nadelholzhumus muß, da er die Lüftung des Bodens verhindert, unterbleiben; daher muß rechtzeitig der Unterbau mit Laubholz beginnen. Kahlschlag soll ganz vermieden werden. — Da jeder abgefrorene Pflanzenteil zunächst durch einen schwächeren ersetzt wird, die Beblätterung im Sommer nach dem Froste eine unvollständige ist, so tritt also zuerst direkter Verlust, nachher weniger Neuerzeugung ein. Durch zweckmäßige Mischung der Gehölze kann ganz sicher der Gesamtertrag auf Böden in Frostlagen erheblich gesteigert werden. Matouschek (Wien).

Diedicke, H., Über Rostpilze der Flora von Jena. (Mitt. d. thüring. bot. Ver. N. F. Heft 25. Weimar 1909. p. 53—55.)

Besprochen wird das Auftreten folgender Arten, in deren Entwicklungsgang vorläufig noch eine Lücke auszufüllen ist:

Peridermium Cornui R. et Kl., Peridermium Stahlii Kl., Gymnosporangium juniperinum und clavariaeforme, Puccinia Sesleriae Reich., Uredinopsis filicina P. M.

Matouschek (Wien).

Eriksson, J., Neue Studien über die Spezialisierung der grasbewohnenden Kronenrostarten. (Arkiv för Botanik. Vol. 3. 1908. No. 3. Mit 1 Tafel.)

Eine gründliche Studie über Kulturversuche mit Puccinia coronata Corda und Puccinia coronifera Kleb. Sie führten zu folgender Spezialisierung:

I. Puccinia coronifera (zu Aecidium Catharticae gehörig).

f. sp. Avenae (auf Avena sativa u. Avena brevis),

f. sp. Alopecuri (auf Alopecurus pratensis u. Alopecurus arundinaceus, auch auf A. sativa übertragbar),

f. sp. Festucae (auf Festuca gigantea und elatior),

f. sp. Lolii (auf Lolium perenne, auch auf Festuca elatior übertragbar),

f. sp. Glyceriae (auf Glyceria aquatica),

f. sp. Agropyri (auf Triticum repens),

f. sp. Epigaei (auf Calamagrostis epigeios, auch auf Avena sativa),

f. sp. Holci (auf Holcus lanatus).

II. Puccinia coronata (zu Aecidium Frangulae gehörig).

f. sp. Calamagrostis (auf Calamagrostis aruudinacea und vielleicht anderen Spezies dieser Gattung, doch auch auf Phalaris arundinacea übertragbar).

f. sp. Phalaridis auf Phalaris arundinacea, selten auf Calamagrostis arundinacea),

f. sp. Agrostis (auf Agrostis vulgaris und Agrostis stolonifera).

Diese Resultate stimmen weniger mit den von Carleton bezüglich der nordamerikanischen Formen des Kronenrostes publizierten überein, wohl aber mit den von H. Klebahn veröffentlichten. Die Natur der f. sp. Holci und f. sp. Agropyri sowie die Zugehörigkeit der f. sp. Melicae konnte aber vom Verf. nicht ermittelt werden.

Matouschek (Wien).

Fischer, E., Contributions à l'étude des espèces biologiques. (Arch. d. Scienc. phys. et nat. 4. pér. T. 26. 1908. p. 450—485.)

Beispiele für Veränderungen des Verhältnisses des Wirtes zum Parasiten und umgekehrt: 1) Puccinia hieracii auf Hieracium pilosella subsp. vulgare wurde z. B. an zwei weit getrennten Standorten gesehen, doch ließen sich die Nährpflanzen durch den Pilz nicht wechselseitig infizieren. Der Kreis dieses Parasiten wird also reduziert, die Nährpflanze ändert sich allmählich spezifisch. — 2) Sphaerotheca humuli auf Alchimilla zeigt andererseits, daß durch allmähliche Veränderung einer Artgruppe der Gattung Alchimilla die Empfänglichkeit für den Parasiten vermehrt wird. Matouschek (Wien).

Bubák, Franz, Zwei neue Uredineen. (Annales mycol. Vol. 7. 1909. p. 377—379.)

Neu sind: Aecidium Pascheri auf der Solanacee Scopolia japonica und zwar auf Blättern (wahrscheinlich zu einer heteröcischen Uredinee gehörig) und Puccinia cognatella auf Poa nemoralis var. umbrosa in Böhmen und Mähren. Letztere Art ist wohl keine zu neue und hat sich von Puccinia Poarum abgespaltet. Von letzterer unterscheidet sie sich durch das Vorhandensein von einzelligen Teleutosporen und durch die geringere Größe der Teleutosporenlager. Sie wird wohl häufiger anzutreffen sein als man vermutet.

Matouschek (Wien).

Dietel, Paul, Beschreibungen einiger neuer Uredineen. II. (Annales mycol. Vol. 7. 1909. p. 353—356.)

Neu sind:

Phragmidium Englerianum (in foliis Rubi Volkensii in monte Kilimandscharo, 2900 m), Puccinia Eleutherantherae (in foliis Eleuthe-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

rantherae ruderalis Schultz in horto botanico Musei Goeldi in Para), P. Andropogonis-macranthi (auf Andropogon macranthus Kth. genuinus Hack. in Tosa, Japan; zeigt keine Scheitelverdickung, doch viele Paraphysen in den Uredolagern), P. Polliniae quadrinervis (in Pollinia quadrinervis Hack., Tosa in Japan), Coleopuccinia simplex (in foliis Eriobotryae japonicae Ldl. ibidem; an Stelle der Puccinia-ähnlichen Sporen besitzt nun der vorliegende Pilz einzellige, es muß daher die Diagnose der Gattung Coleopuccinia erweitert werden), Coleosporium Evodiae (in Evodia meliaefolia Benth in Tosa in Japan), C. Paederiae (in foliis Paederiae tomentosae, ibidem), Hyalospora Cryptogrammes (in Cryptogramme japonica Prantl, ibidem).

Matouschek (Wien).

Vestergren, T., Aecidium alascanum Trel. und Aecidium Orchidacearum Desm. (Svensk Botanisk Tidskrift. Vol. 2. 1908. p. 1—3.)

Ein Aecidium auf Habenaria gracilis (British Columbia) erwies sich als identisch mit Aec. alascanum Trel., das in Alaska bereits früher auf Habenaria hyperborea, bracteata, dilata und auf Orchis aristata bekannt war.

Das Aecidium alascanum aus Nordamerika wurde auch mit Aecidium Orchidacearum (auf Orchideen in Europa) verglichen, wobei sich folgendes ergab: Aec. alascanum bildet kleinere Flecke mit nicht dicht gehäuften Aecidien; es fehlen die Spermogonien, die Peredialzellen haben eine dickere Außenwandung, gröbere Stäbchenstruktur und ein kleineres Zellumen. Die Sporen sind feiner punktiert und kleiner. — Zwei Fragen sind noch zu lösen:

1) Ist Aec. alascanum und Aec. Orchidacearum diözesisch und gehört eine vom Sammler Holway in Britisch-Columbia stets gleichzeitig beobachtete Puccinia auf einer Agrostisart zu diesen Aecidien? Wahrscheinlich.

2) Auf welchen Zwischenwirten bildet das Aec. Orchidacearum die Teleutosporen? Matouschek (Wien).

Bubák, Fr., Eine neue Tilletia-Art. (Zeitschr. f. d. Landwirtschaftl. Versuchswesen in Österreich. Jg. 12. 1909. p. 545.)

Von den bei uns gebauten Zerealien (im engsten Sinne) sind bisher im ganzen drei Tilletia-Arten bekannt: Tilletia Tritici, T. levis und T. Secalis. T. Tritici und T. Secalis können gut nach der Farbe der Sporenmasse schon bei Vorhandensein einzelner Brandkörner unterschieden werden, da dieselbe von T. Tritici immer dunkler ist. Verf. erhielt nun aus Serbien eine Tilletia von Hordeum vulgare, die für T. Tritici gehalten wurde. Dieser Brandpilz interessiert darum besonders, weil von kultivierten Hordeum-Arten bisher keine Tilletia beschrieben worden ist. Die serbische Hordeum-Tilletia unterscheidet sich von T. Tritici sofort durch die Farbe der Sporenmasse, die ebenfalls wie bei T. Secalis dunkel violettbraun ist. Weiterhin sind die Sporen, ebenfalls wie bei T. Secalis, kugelig oder häufig auch eiförmig, während bei T. Tritici dieselben fast durchwegs eine kugelige Form besitzen. Ferner ist auch das Epispor viel dunkler als bei T. Tritici und wie bei T. Secalis violettbraun gefärbt. Ob zwar die Tilletia von Hordeum sehr an T. Tritici erinnert, so hält sie Verf. aus folgenden Gründen doch für eine neue Art: Bei T. Secalis werden die brandigen Körner bald gesprengt und die Sporen verstäuben sehr leicht, während dieselben bei der neuen Tilletia-Art dauernd geschlossen bleiben und demnach auch die Sporen nicht schon am Felde verbreitet werden. Dieses verschiedene Verhalten der T. Secalis einerseits und T. Tritici, wie auch der neuen Hordeum-Tilletia andererseits, könnte vielleicht mit einer anderen Art der Infektion zusammenhängen. Bekanntlich werden durch T. Tritici und wahrscheinlich auch bei der Hordeum-Tilletia die keimenden Weizenpflanzen nur in ihrem jüngsten Entwicklungsstadium infiziert und ist es möglich, daß bei T. Secalis nur eine Blüteninfektion vorkommt. Dazu kommt als weiterer Grund, daß Verf. mit bulgarischem Material auf keimenden Winter- und Sommerkorn Infektionsversuche ausgeführt hat, die völlig resultatlos geblieben sind. Verf. nennt die Hordeum-Tilletia nach dem serbischen Botaniker Pančić Tilletia Pančićii Bubák et Ranojević (letzterer ist der Name des Einsenders). Ihre Diagnose ist die folgende: Sporenmasse dunkel violettbraun, alle Fruchtknoten der befallenen Pflanzen erfüllend und auftreibend, nicht verstäubend, nach Heringslake stinkend. Sporen kugelig, 20—24 μ im Durchmesser oder eiförmig bis kurz ellipsoidisch, 22—28 μ lang, 18—22 μ breit; Epispor hell violettbraun, mit 2—3,2 μ hohen, zu 2—6 μ breiten Maschen verbundenen Leisten besetzt. (Im Fruchtknoten von Hordeum vulgare bei Wladimirzi nächst Schabatz in Westserbien, am 30. Juni 1907 leg. Dr. N. Ranojević.) Es ist noch nötig, die neue Tilletia mit denjenigen Arten zu vergleichen, welche wildwachsende Hordeum-Spezies befallen, nämlich: Tilletia texana Long. (ist von T. Pančićii durch warzige Sporen weit verschieden), T. Hordeĭ Körn. (besitzt schwarzbraune Sporenmasse, dunkelbraunes Epispor und verhältnismäßig kleinere Sporen) und T. Trabuti Jaczewski (wird gewiß mit T. Hordei identisch sein). Mit der neuen Tilletia-Art sollen im Jahre 1909 Infektionsversuche auf Secale, Hordeum und Triticum durchgeführt werden.

Stift (Wien).

Magnus, P., Eine neue Ramularia aus Südtirol nebst Bemerkungen über das häufige Auftreten solcher Konidienformen in gebirgigen Gegenden. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 27. 1909. p. 214—222. m. 1 Abb. im Text.)

Ein aus Südtirol, aus der Gegend von Vahrn stammender Pilz auf Polygala-Blättern erkannte Verf. als neue Art: Ramularia Heimerliana P. Magn. Der Pilz bricht auf der Blattunterseite hervor, ohne hier entfärbte Flecken zu bilden und entwickelt Konidienträger aus den Spaltöffnungen heraus. Die Konidien sind stäbchenförmig und in vollentwickeltem Zustande zweiteilig, 22—32 μ lang und 2,7—5 μ breit.

Das reiche Auftreten zahlreicher Mucedineen in Tirol veranlaßt Verf. eine Aufzählung aller 118 bisher aus dem Gebiete bekannt gewordenen Arten zu geben. Zum Schlusse weist Verf. darauf hin, daß diese Konidienformen nur Ascomyceten-Fortpflanzungsorgane sind, die allerdings den klimatischen Verhältnissen vieler gebirgigen Gegenden angepaßt sind.

K. Müller (Augustenberg).

Falck, Über den Nachweis des echten Hausschwammes. (Zentralbl. der Bauverwaltung. 1909. No. 37.)

Nach kurzer Besprechung der für die Holzzerstörung in Betracht kommenden Pilze weist Verf. darauf hin, daß einmal die Coniophora cerebella bis in die neueste Zeit häufig mit dem eigentlichen Hausschwamm, Merulius lacrymans domesticus, verwechselt worden ist, und erst durch Möller die gebührende Würdigung gefunden hat.

Des weiteren behandelt er die von ihm festgestellte Unterscheidung von Merulius domesticus und Merulius silvester, die sich besonders auf die Empfindlichkeit des erstgenannten gegen über 26° liegende Temperaturen aufbaut, und gibt dann folgende Anleitung zur Diagnose:

Um in der Praxis ein Mycelium als dasjenige des echten Hausschwammes zu identifizieren, tränkt man die zu prüfenden, noch nicht ausgetrockneten Schwammholzstücke, es genügen fingerdicke Holzproben, mit 1proz. Kupfersulfatlösung, bringt sie in ein bedecktes Glasschälchen, stellt dies in einen Thermostaten von 22° und überzeugt sich von der Wachstumsfähigkeit des Myceliums. Ein anderes, ebenso behandeltes Holzstück stellt man zugleich in einen Thermostaten von 27° und beobachtet, ob das Wachstum hier etwa in der gleichen Intensität erfolgt, wie bei 22°, oder ob es unterbleibt. Findet bei 22° üppiges Ausstrahlen der rein weißen Schnallenhyphen statt, während es bei 27° offensichtich zurückbleibt, so liegt das Mycelium des echten Hausschwammes vor. Ist die Fäule durch Merulius silvester, Coniophora cerebella oder einen anderen Holzzerstörer verursacht, so wird auch bei 27° ein üppiges Auswachsen der Holzprobe zu beobachten sein. Für die Diagnose von Coniophora kommen alsdann, abgesehen von mikroskopischen, noch die folgenden Merkmale in Betracht: Die Mycelien sind gelblich, bei üppigem Wachstum bis buttergelb gefärbt, seltener weiß, und bilden im Alter dunkelbraune Stränge. Auch das Holz zeigt an der Oberfläche eine mehr oder weniger dunkelbraun gefleckte kennzeichnende Färbung.

Bezüglich der Frage der Wachstumsgeschwindigkeit steht Falck auf gerade entgegengesetztem Standpunkt wie Wehmer (Heft 18/23 dieses Centralblattes), indem er auf Grund seiner früheren Untersuchungen (Heft 1 der Hausschwammforschungen) die Ansicht vertritt, daß Coniophora infolge ihrer größeren Wachstumsgeschwindigkeit den Mycelien des echten Hausschwamms voranwächst. Ganz ungeklärt ist nach Verf. noch die Unterscheidung der Vaporarius-Fäulen, da die Bezeichnung „Polyporus vaporarius“ nur einen Sammelbegriff darstellt, und eine große Anzahl verwandter Arten in Betracht komme. Ehrenberg (Breslau).

Montemartini, L., La screpolatura del granturco. (Rivista di Patol. veg. Vol. 3. 1909. p. 257—259.)

In regnerischen Sommern findet man öfters in Oberitalien reife Maiskolben mit rissigen Samen, welche das Mehlgewebe bloß gelegt zeigen. Nach Verf. darf man die Ursache dieses Übels in dem Zurückbleiben von Zucker im Mehlgewebe ansehen, der sich nicht ganz zu Stärke kondensiert hat. Beim Befeuchten des Samens wird Wasser aus osmotischen Gründen eingezogen, wodurch schließlich die Samenschale nebst Kleberschicht platzen muß.

Pantanelli (Rom).

Foëx, E., Rouilles de céréales. 8°. 116 pp. Montpellier (Coulet et fils) 1908.

Für die Landwirtschaft sind wichtig die Fragen über die Spezialisierung der parasitischen Rostpilze, über die Beständigkeit der biologischen Rassen. Doch nur energische Anlehnung an mikroskopische und experimentelle Forschungen, ausgeführt in den verschiedenen Ländern, wird Klarheit bringen. Verf. gedenkt der wichtigen Arbeiten Erikssons und dessen Nachfolgern. Dann werden die ersten Resultate eine Enquête, die durch die Station für Phytopathologie in Montpellier organisiert wurde, und welche auch die aus diversen Gegenden Frankreichs einlaufenden Antworten prüfte. Um Schlüsse aus den Verhandlungen jetzt schon zu ziehen, wäre übereilt. Verf. glaubt wohl mit Recht, daß es auf die Schaffung widerstandsfähigerer Rassen ankommt, die je nach den Ländern wohl verschieden sind. Matouschek (Wien).

McNeil, J. H. (J. M. ex err.), and **Pammel, L. H.,** The danger from feeding hay that containts Ergot. (Exp. Stat. Iowa. Jan. 1908. p. 1—8. m. 3 Fig.)

Claviceps purpurea tritt in Nordamerika von Zeit zu Zeit in großer Ausdehnung auf und schädigt dann die Farmer sehr empfindlich. Jährlich werden mehrere Fälle von Viehsterben durch Mutterkornvergiftung angezeigt. Die Krankheitssymptome sind sehr verschieden. Verf. unterscheidet Nervous Ergotism und Gangrenous Ergotism. Hufe von erkranktem Vieh werden abgebildet, ebenso mutterkornkranke Halme von:

Secale cereale, Glyceria nervata, Poa, Asprella hystrix, Phalaris arundinacea, Elymus robustus, Koeleria cristata, Agropyrum occidentale, Calamagrostis canadensis, Phleum pratense.

Herter (Montevideo).

Brizi, V., Terzo contributo allo studio del brusone del riso. (Annuario d. Istit. Agraria Ponti, Milano. Vol. 7. 1908. 70 pp.)

Im Gegensatz zu den Behauptungen Farnetis konnte Verf. die Brusonekrankheit des Reises weder mit Piricularia oryzae, noch mit Helminthosporium turcicum oder anderen, auf kranken Reispflanzen getroffenen Pilzen hervorrufen. In Tautropfen sind solche Pilzsporen keineswegs so verbreitet, wie man angenommen hat, und filtriertes Tauwasser ruft keine Bräune an Reishalmen hervor.

Die Bakterien, die man auf Reiswurzeln trifft, sind durchweg harmlos. Voglino hat den Brusone einem Bakterium zugeschrieben; keine Form vermag aber in die unversehrte Wurzel einzudringen, höchstens kann das Faulen absterbender Wurzeln durch einige Formen beschleunigt werden.

Eine Erwärmung des Reisfelderbodens um 10° C über das Mittel genügt auch nicht, um die Krankheit hervorzurufen.

Verf. hält daher seine Ansicht aufrecht, der Brusone werde durch Sauerstoffmangel und Vergiftung der feineren Wurzeln durch reduzierende Gase bewirkt, und zeigt, daß nur durch Bearbeitung und Auflockerung des Reisfeldergrundes eine Einschränkung der Krankheit möglich ist.

E. Pantanelli (Rom).

Ferraris, T., Seccume ed annerimento delle foglie del fagiolo nano prodotto da Alternaria Brassicae. (Rivista di Patol. veg. Vol. 3. 1909. p. 241—244.)

Eine Blattfleckenkrankheit der Zwergbohne (Phaseolus vulgaris nanus L.) wird bei Turin durch Alternaria Brassicae (Berk.) Sacc. f. Phaseoli P. Brun verursacht. Das Pilzmycel bewirkt Hypertrophie des Blattparenchyms und sendet konidientragende Äste durch die Spaltöffnungen ins Freie. Die Blätter rollen sich ein und trocknen vollständig aus, so daß die ganze Pflanze verkümmert oder gar abstirbt.

E. Pantanelli (Rom).

Ulrich, P., Der Kleekrebs. (Flugbl. der K. Biol. Anst. No. 45. 1909.)

Verf. gibt eine genaue durch gute Abbildungen unterstützte Beschreibung des Kleekrebses. Die Krankheit ist den Praktikern noch nicht genügend bekannt; wahrscheinlich beruhen vielfach „Auswinterungsschäden“ auf Befall durch den Kleekrebs. Eine Verschleppung der Krankheit durch das Saatgut hält Verf. für unwahrscheinlich; die Übertragung der Krankheit auf gesunde Felder wird durch den Wind vermittelt. Da direkte Bekämpfungsmittel nicht bekannt sind‘ wird empfohlen, auf verseuchten Feldern den Kleebau auszusetzen und durch tiefes Umbrechen die Sklerotien unschädlich zu machen. Riehm (Gr.-Lichterfelde).

Ferraris, T., Osservazioni preliminari intorno al marciume violetto dell’ olmo. (Rivista di Patol. veg. III. 1909. p. 305—320.)

Bericht über Leuchtgasbeschädigungen an einer Ulmenallee. Die Pflanzen starben innerhalb 3 Jahre ab. Charakteristisch war die braunviolette Färbung, die Zellinhalt und Zellwand im Rindenparenchym und Markstrahlen der Wurzeln annehmen. E. Pantanelli (Rom).

Noelli, A., Nuove osservazioni su la Peronospora effusa (Grev.) Rab. (S.-A. aus Annali R. Acad. Agric. Torino. Vol. 51. 1909. 10 pp.)

Verf. zeigt, daß bei der weitgehenden Ähnlichkeit in der Verästelung die Konidien- und Oosporenform Peronospora Spinaciae Laubert nur eine Form von P. effusa (Grev.) Rab. darstellen kann. Bespritzung der Spinatblätter mit pilztötenden Brühen ist aus hygienischen Rücksichten zu verbieten; ein rationelles, aber kostspieliges Gegenmittel wäre schon die Entfernung der herumwachsenden wilden Chenopodiaceen. Am besten wird man den in Oberitalien ziemlich verbreiteten falschen Mehltau des Spinats durch Selektion widerstandsfähiger Sorten bekämpfen können.

Pantanelli (Rom).

Fuschini, C., La diffusione di una nuova crittogama in Italia. Il „mal bianco“ della Quercia. (La Rivista. Conegliano. Ser. 4. T. 14. 1908. p. 424—426.)

Verf. stellte im August 1908 die Anwesenheit des Eichen-Oidium in Oberitalien fest. Wie in Venetien, so sei auch in der ganzen Lombardei und im Piemont die Krankheit so heftig aufgetreten, daß man auch nicht einen jungen Eichentrieb ohne Meltau zu finden vermöge. Nach 14tägiger Behandlung kranker Bäume mit Schwefel konnte Verf. vollkommenes Verschwinden des Oidium konstatieren. Herter (Montevideo).

Gard, L’Oidium du chêne pendant l’été et l’automne de 1908 dans le Sud-Ouest de la France. (Journ. de Botan. 21. 1908. p. 253—256.)

Der durch den Eichenmeltau hervorgerufene Schaden ist nach Verf. ein recht beträchtlicher. Nicht nur die Mehrzahl der befallenen Blätter sondern auch die Zweigenden werden getötet. Am stärksten wurde Quercus Tozza angegriffen. Diese Eiche ist, weil den einheimischen in mancher Beziehung überlegen, jetzt in großem Maßstabe angepflanzt worden. Er wäre rehr bedauerlich, wenn die Kultur dieses Baumes wieder aufgegeben werden müßte. Gegen Ende Juli 1908 hörte die Ausbreitung des Parasiten

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

plötzlich auf, so daß im Herbst am Ende der entblätterten Zweige wieder neue Blätter hervorgesproßt waren. Überall wurde die Beobachtung gemacht, daß der Parasit hauptsächlich an Stockausschlägen auftrat. Verf. erinnert daran, daß der kultivierte Weinstock, der regelmäßig beschnitten wird, ebenfalls viel empfänglicher für Pilzkrankheiten sei als der wilde. Als Bekämpfungsmittel wird Schwefeln empfohlen.

Herter (Montevideo).

Saccardo, P. A., L'oidio della quercia. (Gazzetta del contadino. Treviso 1908. No. 32.)

Verf. zeigt, daß der 1907 und 1908 [auch 1909!] in Italien so weit verbreitete Eichenmehltau mit der einzigen Erysiphacee, die bei uns auf Eichenarten ziemlich oft vorkommt, Phyllactinia suffulta, und mit Oidium quercinum Thümen nichts zu tun hat; er scheint vielmehr mit der Oidialform von Microsphaera quercina Cooke, einer nordamerikanischen Erysiphacee, identisch zu sein. Die Herkunft der neuen Seuche ist unbekannt; irgendeine Bekämpfungsmethode anzuraten, ist unmöglich. Pantanelli (Rom).

Griffon et **Maublanc,** Le blanc du chêne. (Bull. Soc. mycol. France. Vol. 25. 1909. p. 37—51.)

Die Mitteilung bringt, was über den Eichenmeltau seit seinem ersten Auftreten in Europa bekannt geworden ist. Viel neues enthält die Arbeit nicht. Die Verff. stellen sich auch auf den von anderen Autoren eingenommenen Standpunkt: Entweder handelt es sich um einen eingeschleppten oder um einen schon früher in Europa verbreiteten Pilz, welcher sich gerade jetzt — unter günstigen Witterungsbedingungen — sehr stark ausgebreitet hat. Daß eine Phyllactinia in Betracht käme, scheinen die Verff. immer noch in den Bereich der Möglichkeit zu ziehen. . Neger (Tharandt).

Burnat, J., et **Jaccard, P.,** L'acariose de la vigne. (Revue de viticulture. T. 31. 1909. p. 235.)

Die vorliegenden Beobachtungen und Versuche über diejenige Milbenkrankheit der Reben, welche im Gegensatz zur Erinose als Kräuselkrankheit, Verzwergung oder court-noué in den letzten Jahren bekannt geworden ist, wurden von 1906—1908 in verschiedenen Rebbergen der Kantone Genf und Waadt ausgeführt. In teilweisem Widerspruch mit den bisherigen Anschauungen heben die Verff. hervor, daß diese Milbenkrankheit nicht identisch ist mit der in Frankreich gleichfalls als court-noué oder auch als roncet bekannten Rebenerkrankung.

In beiden Fällen handelt es sich allerdings um eine Verzwergung junger Rebentriebe; während bei der Milbenkrankheit aber sich auf den verkümmerten Blättern immer Milben der Gattung Phyllocoptes nachweisen ließen, war dies trotz zahlreicher und sorgfältiger Nachforschungen bei den roncet-kranken Reben nie der Fall. Weitere Unterschiede liegen ferner noch darin, daß allein bei der Milbenkrankheit die befallenen Blätter sich kräuseln und im durchfallenden Licht zahlreiche kleine braune Flecken (Stichwunden) erkennen lassen und daß ferner die roncet-Erkrankung den ganzen Sommer hindurch ungeschwächt fortdauert, während bei dem von Milben verursachten court-noué die erst im Sommer entstandenen blütenlosen Triebe gewöhnlich wieder normal aussehen.

Dementsprechend eigneten sich Lysol und Polysulfide nur für die Kräuselkrankheit der Reben als Bekämpfungsmittel, während sie sich gegen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

den roncet, dessen jedenfalls nicht parasitäre Ursache noch nicht klargelegt wurde, als unwirksam erwiesen.

Die Milben der Kräuselkrankheit überwintern — wie auch schon früher festgestellt wurde — unter Rindenschuppen zuäußerst an den älteren Ästen, dicht an der Basis der letztjährigen Triebe; sie wurden während des Winters von den Verff. nie im Innern der Knospen angetroffen. Eier konnten keine gefunden werden. Im Frühjahr werden die Knospen dann infiziert.

Die Angaben über die gute Wirkung einer Behandlung mit Lysol oder mit Polysulfiden konnten durch zahlreiche Versuche bestätigt werden; in vielen Fällen genügte auch ein zweimaliges Bestäuben mit Schwefel zur Vernichtung der Milben. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Pantel, J., et de Sinety, R., Sur l'apparition de mâles et d'hermaphrodites dans les pontes parthénogénétiques de Phasmes. (Compt. rend. acad. d. scienc., Paris. T. 147. 1908. p. 1358—1360.)

In der Familie der Phasmiden (Orthopteren) tritt bei gefangenen Weibchen häufig Parthenogenese auf; die erhaltenen Larven waren stets weiblich. Namentlich mit Dixippus morosus und mit einer vielleicht neuen Art wurde experimentiert; sie wurde durch zehn Jahre parthenogenetisch gezüchtet. Ein robustes Weibchen des Dixippus sp. brachte unvermutet im August zwei Männchen und auch ein Weibchen mit normalem Körperbau, dessen eine Körperhälfte die Eigenschaften des Männchens zeigte. Ein ähnliches Zwittertum zeigte sich zu verschiedenen Malen auch während der parthenogenetischen Zeugung des Dixippus morosus. Bei solchen Individuen, die beide Geschlechter in sich vereinigen, funktionieren die Geschlechtsorgane nicht; es treten oft Mißbildungen auf, die den vorzeitigen Tod des betreffenden Individuums herbeiführen.

Matouschek (Wien).

Foà, Anna, Intorno al ciclo evolutivo della fillossera del cerro. (Bull. Off. Minist. Agric. Serie II. Anno 7. Vol. 6. 1908. p. 164—168.)

Aus den Flügelformen der Zerrenreblaus entstehen nur flügellose Weibchen. Die folgende Generation besteht aus geflügelten und hapteren Weibchen. Man kann daher sexupare und virginopare Flügelweibchen unterscheiden. E. Pantanelli (Rom).

Fuschini, C., Contributo a lo studio della Phylloxera Quercus. (Bull. Off. Minist. Agric. Anno 7. Vol. 1. 1908. p. 131—136.)

Verf. ist nach vieljährigen Beobachtungen imstande, den ganzen Entwicklungskreis von Phylloxera Quercus Boyer darzulegen. Auf Q. ilex und coccifera ergibt die Aufschließung des Wintereies die Larvenform der Stifterin, welche nach vier Hautwechseln Eier ablegt. Nach 4—5 Tagen entschlüpfen aus diesen Eiern Larven der zweiten Generation. Wanderformen, die nach mehreren Hautwechseln Ende Mai die Flügelformen ergeben und im Juni nach den Sommereichen (Q. pedunculata, sessiliflora, robur) hinwandern. Dort entsteht aus ihren Eiern die dritte Generation, welche aus ungeflügelten Männchen und Weibchen besteht; nach Begattung wird ein befruchtetes Sommerei abgelegt. Die Entwicklung dieses Eies liefert eine eichenseßhafte Stifterlarve, woraus die sogenannten Vermehrungsformen anderer Autoren entstehen; ihre Eier geben die herbstliche geschlechtbildende Form, die sich auf die Wintereichen zurückzieht und darauf Eier ablegt. Daraus entschlüpfen sofort ungeflügelte Männchen und Weibchen, die durch Begattung das Winterei zustande bringen. E. Pantanelli (Rom).

Grandori, R., Ulteriori ricerche su la fillossera gallicola. (Bull. Offic. Minist. Agric. Serie II. Anno 7. Vol. 6. 1908. p. 158—164.)

Weitere Untersuchungen über die Gallenläuse führten Verf. zur Beobachtung, daß die Übergangsformen von Gallen- zu Wurzelläusen im Sommer zahlreicher werden; man kann bei Gallenläusen 1) typische, 2) typusähnliche und 3) Übergangsformen zu Wurzellaus unterscheiden. Je nachdem die Übergangsformen mehr der Gallenlaus oder der Wurzellaus sich nähern, bilden sie eine neue Galle oder wandern nach den Wurzeln. — Die Sommergenerationen der Gallenlaus fallen oft einem weitgehenden Absterben anheim. — Es war bereits von Baccarini (1893) beobachtet worden, daß in bestimmten vulkanischen Sandböden auf dem Ätnagebirge die Reblaus während des heißen Sommers in Ruhezustand verharrt, in einer sog. Ästivation, der im Dezember die Hibernation ohne weiteres folgt. Solche Beobachtungen werden vom Verf. bestätigt und auf andere Sandböden, insbesondere Strandsand ausgedehnt. E. Pantanelli (Rom).

Grassi, B. e **Grandóri, R.,** Ulteriori ricerche su la fillossera della vite. (Bull. Off. Minist. Agric. Serie II. Anno 7. Vol. 4. 1908. p. 208—216.)

Der Wandertrieb ist bei der ersten Gallenlausgeneration so stark ausgesprochen, daß die neugeborenen Gallenläuse die angelegten Gallen meistens wieder verlassen und auch nach dem ersten Hautwechsel die Bildung neuer Gallen hervorrufen. Sie können aber nur auf den den Knospen noch anliegenden Blättchen Gallen erzeugen.

Die Ablegung eines Wintereies stößt manchmal auf Schwierigkeiten auch bei amerikanischen Stöcken; nur äußerst selten wird es auf wurzelechten, europäischen, schon weniger selten auf veredelten Stöcken abgelegt. In jedem Falle bildet die entstehende Larve nur ausnahmsweise Gallen auf europäischen Trieben.

Es gelang den Verff., zwei Neugallenläuse der ersten Generationen auf bloßgelegten Wurzeln festzulegen und sie dort einen Hautwechsel ausführen zu lassen.

Ein solcher Versuch, der die Möglichkeit einer Anpassung der Gallenläuse an das unterirdische Leben und viceversa dartut, hat nur ein wissenschaftliches Interesse; praktisch darf man immer nur an den gewöhnlichen Lebenskreis festhalten. E. Pantanelli (Rom).

Grassi, B., e **Foà, Anna,** Ulteriori ricerche su la fillossera della vite. (Bull. Offic. Minist. Agric. Serie II. Anno 7. Vol. 4. 1908. p. 202—207.)

Die Verff. erhielten mit Wurzelläusen die Bildung vollständiger und unvollständiger Gallen auf Reben, Blattstielen und Blattspreiten, wie das Cornu bereits gelungen war. Die in solchen Gallen neugeborenen Rebläuse bildeten wiederum Gallen, und es konnte ein gradueller Übergang der Wurzellaus zu Gallenlausmerkmalen beobachtet werden.

Der Saugrüssel verlängert sich vom Frühling zum Herbste bei den nachfolgenden Wurzellausgenerationen; das letzte Fühlhornglied ist bei überwinternden Läusen etwas länger. Morphologische Unterschiede zwischen Winter- und Sommerformen sind bei der Reblaus wie bei anderen Chermiden vorhanden. E. Pantanelli (Rom).

Grassi, B., e **Foà, Anna**, Ulteriori ricerche su le fillossere della vite fino al 1. Dec. 1908. (Bull. Off. Minist. Agric. II. Anno 7. Vol. 6. 1908. p. 150—158.)

Mit aus Wurzelläusen herkommenden Gallenläusen konnten die Verff. ameriko-amerikanische Bastarde (Riparia und Rupestris) nicht infizieren, während die Gallenbildung durch dem Winterei entstammende Gallenläuse auf Bastarden so leicht gelingt. Die Saugborste hat sich bei den ersteren nicht verkürzt, wie es bei den letzteren geschieht. Die Verlängerung der Saugborste bei den Sommergenerationen der Wurzelläusen scheint von der Jahreszeit abhängig zu sein.

Ferner wurden bei unterirdischen Rebläusen eigentümliche, normal Eierbildende, aber mit Nymphenaugen und Flügelstümpfen versehene Formen beobachtet.

Es genügen vier Hautwechsel, um von einem Gallen- oder Wurzelweibchen bis zur Flügelform zu gelangen. Den Eiern einer unbeflügelten Mutter scheinen beflügelte oder haptere Formen indifferent entstammen zu können.

E. Pantanelli (Rom).

Pantanelli, E., Ricerche fisiologiche su le viti americane oppresse da galle fillosseriche. (Staz. sperim. agrarie. T. 42. 1909. p. 305—336.)

Nach kurzem Hinweisen auf die hauptsächlichen gallenbildenden amerikanischen Rebsorten werden die anatomischen, morphologischen und physiologischen Veränderungen besprochen, welche die übermäßige Beladung der Blätter mit Reblausgallen bewirkt, wie man sie jährlich in den amerikanischen Rebschulen Siziliens beobachtet.

In morphologischer Hinsicht fallen das Kurzbleiben der Internodien und Kleinbleiben der Blätter, in anatomischer die Armut an mechanischen Elementen in Stengeln, Blattstielen und Blattnerven auf. Die gallentragenden Reben sind durch geringere Hemicellulosenablagerung in den Holzfasern unvollkommen verholzt.

Gallenreiche Blätter und die dazu gehörenden Zweige enthalten mehr organischen Stickstoff, der Eiweißgehalt ist aber im Blatte reichlicher, im Zweige spärlicher vorhanden als in den gesunden Organen gleichen Alters.

Stärkegehalt und Hemicellulose sind ebenfalls bei gallentragenden Organen weit geringer, der Zuckergehalt ist dagegen gleich oder sogar höher.

Gesamtasche, Eisen, Kalk und Magnesia sind im gesunden Blatte, Kali und Phosphorsäure im gallenreichen in größerer Menge vorhanden; das Gleiche gilt für die Zweige, welche aber etwas weniger Gesamtasche enthalten.

Kryoskopische Messungen zeigten, daß der Zellsaft gallenreicher Blätter eine höhere Konzentration besitzt.

Verf. schließt aus diesen Beobachtungen, welche meistens mit Riparia × Rupestris 3306 und Rupestris metallica ausgeführt wurden, daß die übermäßige Gallenbildung die Organe, insbesondere wegen der fortwährenden Abfuhr löslicher Nährstoffe durch die Rebläuse

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

und verhinderten Ablagerung unlöslicher Reservestoffe, in einem jugendlichen Zustande verharren läßt. Pantanelli (Rom).

Jaap, Otto, Cocciden-Sammlung. Serie I. No. 1—12. Hamburg. 5 *M*.

Es sollen die Cocciden als Pflanzenschädlinge in schönen Exemplaren von ihren diversen Nährpflanzen in verschiedenen Entwicklungsstadien und aus möglichst vielen Gegenden der Erde ausgegeben werden. Die Exsiccaten sind außerordentlich instruktiv präpariert. Die Scheden enthalten genaue Angaben über Nährpflanze, Fundort, Datum, Häufigkeit. Die Revision nimmt der fachkundige Coccidenforscher L. Lindinger vor. Es wurden bereits ausgegeben: Asterolecanium quercicola (Bouché) Sign. auf Quercus robur, Cryptococcus fagi (Baer.) Dougl. auf Fagus silvatica, Fonscolombea fraxini (Kalt.) Ckll. auf Fraxinus excelsior, Aspidiotus abietis (Schr.) Löw auf Pinus austriaca, Chionaspis salicis (L.) Sign. auf Populus tremula, Diaspis rosae (Bouché) Sign. auf Gartenrosen, Lepidosaphes pomorum (Bouché) Kirk. auf Sorbus aucuparia, Lepidosaphes Newsteadi (Sulc.) Fern. auf Pinus austriaca, Leucodiaspis candida (Targ.) Lindgr. auf Pinus silvestris, Leucodiaspis Sulci (Newst.) Lindgr. auf Pinus silvestris, Lecanium corni Bouché auf Sarothamnus scoparius, Orthezia urticae (L.) A. et Serv. auf Urtica dioeca.

Die Subskription möge man, da das Werk in kleiner Auflage, ob der seltensten Arten, die unbedingt mit berücksichtigt werden, erscheinen wird, bald bei dem Herausgeber anmelden. Matouschek (Wien).

Stichel, Roland, Merodon equestris F. (Dipt.) als Schädling im Warmhaus. (Berliner entomolog. Zeitschr. Bd. 53. 1908. p. 204—202.)

Im Spätherbste 1907 und 1908 traten in den Zwiebeln einer gepflegten Amarylliskultur (Amaryllis vittata) in Berlin Fäulnisprozesse auf; der Herd der Krankheit lag in der Nähe der Wurzeln. Man bemerkt ein 1—1,5 cm tiefes Bohrloch, welches sich als Fraßgang einer etwa 2 mm langen dicken, stark querrunzligen Fliegenlarve von weißlicher Farbe erwies. Das Ende des Ganges bildete eine geräumige Kammer, das Herz der Zwiebel wurde dadurch ganz zerstört. Selten trat Vernarbung ein; gewöhnlich fingen nur die seitlich angesetzten Brutzwiebeln zu treiben an. Vielleicht fressen sich die Maden erst später in die Zwiebel ein; die Verpuppung geschieht zwischen den trockenen äußeren Zwiebelschalen oder in der Erde nächst der Zwiebel. Die Puppen ergaben den oben genannten Schädling, eine Diptere. 1902 trat das Insekt auch in der Gärtnerei F. Späth bei Berlin auf. Matouschek (Wien).

Börner, Zur Biologie und Verwandlung des Birnsaugers. (Mitt. a. d. k. biolog. Anst. f. Land- u. Forstw. Heft 8. 1909 [Jahresber. f. 1908]. p. 48.)

Verf. hatte Gelegenheit, ein Jahr durch die Biologie eines Birnsaugers (Psylla pirisuga Fürst.) zu studieren. Anfangs Mai werden die ersten Eier gelegt, nachdem Ende April die Kopula erfolgt war. Die Eiablage dauerte bis Anfang Juni, die Männchen sterben bereits Mitte Mai ab. Nach einer

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Woche schlüpfen die Larven aus, in vier Wochen erreichen sie ihre definitive Gestalt, indem sie durchschnittlich jede Woche eine Häutung erledigen. Die Verwandlung umfaßt, ähnlich wie bei Blattläusen, fünf Stadien. Die Begattung und Eiablage findet erst nach Überwinterung statt, es gibt also in einem Jahre nur eine Generation. Die Tiere saugen besonders an den jungen Blättern, die beulig verkrüppelt werden.

Eichinger (Halle a. S.).

Koch, Rudolf, Das Larvenleben des Riesenbastkäfers, Hylesinus (Dendroctonus) micans Kug. (Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtsch. 1909. Heft 6.)

Nach einigen fehlgeschlagenen Versuchen verwendet Verf. folgende Versuchsanordnung zur Zucht von Riesenbastkäferlarven: Zwischen zwei möglichst sterile Glasplatten von 30 × 40 cm legte er ein etwas kleineres Stück frischgeschälter, möglichst gleichdicker und von Astlöchern freier Fichtenrinde, mit der Splintseite nach oben. Die obere Glasplatte wurde aus praktischen Gründen mit Bleigewichten beschwert und die Ränder mit Papierstreifen verklebt. Die Gewichte wählte Verf. zuletzt so schwer, daß die Glasplatte mit ca. 2200 g pro qcm belastet war.

Die dem Versuche dienende Rinde soll zweckmäßig nicht mit eisernen Instrumenten abgelöst werden, da sich sonst Verbindungen von Eisen mit Gerbsäure bilden, die auf die fressenden Larven schädlich wirken. In die Splintseite der Rindenstücke schnitt Verf. künstliche „platzförmige“ Muttergänge ein und setzte Micans-Larven ein.

Auf diese Weise gelang es ihm, die Entwicklung der Tiere vom Ei bis zur Imago zu verfolgen.

Bei einer anderen Versuchsanordnung gelang es dem Verf. sogar, selbstgezogene imagines zur Eiablage unter Glas zu bringen. (Abbildung 2).

Verf. geht nun näher auf die Resultate seiner Versuche ein. Jedes Entwicklungsstadium von H. micans ist hinsichtlich seiner Dauer in erster Linie von Temperaturverhältnissen abhängig. Jedes Stadium erreicht seinen Abschluß bei höherer Temperatur rascher als bei kühler. Außerdem zeigen sich aber in der Entwicklungsdauer des Käfers auch individuelle Verschiedenheiten. Nicht nur die verschiedenen Geschlechter zeigen diese Unterschiede, die Weibchen entwickeln sich nämlich rascher als die Männchen, sondern auch bei gleichgeschlechtlichen Tieren ist die Entwicklungsdauer unter völlig gleichen Lebensbedingungen oft verschieden. Zur Illustration dieser Beobachtungen teilt Verf. einige Versuche mit, in einem Falle zeigten 2 Individuen einen Unterschied von 44 Tagen in ihrer Entwicklungsdauer.

Aus einer großen Anzahl von Eiern schlüpften zunächst nur einzelne Larven, die dann dicht aneinandergedrängt an einer Randstelle des platzförmigen Mutterganges einen kleinen, halbkreisförmigen Platz ausfraßen. Die Larven fraßen am liebsten in der Richtung der Bastfaser, nur ungern und langsamer quer zu derselben. (Abbildungen.) Nach wenigen Tagen finden sich alle Larven des Eilagers an der Fraßstelle ein und der Fraßplatz vergrößert sich nun rasch halbkreisförmig. In dieser Weise fressen die Larven bis zur Verpuppung. Bisweilen verteilte Verf. die zusammengeklebten Eier absichtlich auf einer großen künstlichen Rindengrube, dennoch fanden sich alle Larven zusammen zum Fraß, einerlei ob sie von demselben Muttertier stammten oder nicht. Auch alte und junge Larven fressen gemeinschaftlich nebeneinander. Irgendwelche Lichtempfindlichkeit konnte Verf. bei seinen Versuchstieren nicht konstatieren. Finden die Larven bei ihrem Fraß irgend ein Hindernis, so spalten sie sich öfters in 2 Gruppen; eine Spaltung findet auch statt bei der Unterbringung in einem andern Rindenstück. Hierbei werden richtige Verbindungswege zwischen den einzelnen Gruppen freigehalten, auf denen ein fortgesetzter Verkehr stattfindet. Verf. hat sogar beobachtet, daß mehrere durch schmale Rindenstücken getrennte Larvenfamilien aufeinander zu fraßen und eine Kommunikation zwischen sich herstellen, desgleichen zeigen auch zwei Larvenfamilien, die sich bei ihrem Fraße nahe kommen, sofort das Bestreben, sich mit einander in Verbindung zu setzen. Der Geselligkeitstrieb der Micans-Larven geht soweit, daß eine Isolierung einzelner Larven eine offenkundige Störung und Beunruhigung bei denselben hervorbringt. Verschiedene Versuche werden zur Darlegung dieser Tatsachen mitgeteilt. Verf. spricht die Vermutung aus, daß sich die Larven durch Gehör fänden.

Die meisten andern Bohrkäferlarven und die sonstigen im Baume lebenden Larven wichen einander aus, meist bekämpfen sie sich aufs heftigste, wenn sie aufeinander treffen.

Einige Forscher halten den familienweisen Larvenfraß für genetisch älter. Von dieser Annahme ausgehend folgert Verf., daß der Geselligkeitstrieb infolge von Massenvermehrung und Nahrungseinschränkung in das Gegenteil umgeschlagen sei. Denn ein gegenseitiger Kampf um Nahrung ist leichter einzusehen als eine Art „Verbrauchsgenossenschaft mit dem Prinzip größter Sparsamkeit“ wie sie eine fressende Micaus-Larvenfamilie darstellt.

An der Micans-Larvenfamilie beobachtete Verf. die ersten Anfänge einer Arbeitsteilung. Hinter der fressenden Kolonne sind immer 5—15 Proz. der Tiere mit dem Aufbau der Bohrmehlplatte, der Reinhaltung des Fraßraumes und der Freihaltung der erwähnten Verbindungswege beschäftigt. Von Zeit zu Zeit erfolgt Ablösung bei dem Geschäft. In die Bohrmehlplatte werden auch abgelegte Häute und Leichen eingebettet. Bisweilen verlassen einige oder auch alle Larven eines Larventrupps ihren Fraßplatz und schließen sich einer anderen Kolonne an. Die Bohrmehlplatte scheint als Schutzmittel gegen feindliche Angriffe und vor allen Dingen als Verpuppungsraum zu dienen. Bei der Verpuppung verschwindet plötzlich der Geselligkeitstrieb der Tiere und jedes ist sogar bemüht sich durch eine Scheidewand von seinen Genossen zu trennen. Verf. hat durch Versuche festgestellt, daß dieses Abtrennungsbedürfnis sogar sehr energisch ist. Als Grund für dieses Verhalten nimmt Verf. die Empfänglichkeit der Puppen für eine Krankheit (Verjauchung an), die bei direkter Berührung ansteckend ist. Vielleicht ist der Grund auch darin zu suchen, daß, wie es von Verf. beobachtet wurde, fertige Käfer die Puppen anfressen, und daß sich diese hiervor schützen wollen oder auch vor Nachstellungen durch Rhizophagus.

Das Larvenleben von Hylesinus micans dauert durchschnittlich 68 Tage, während welcher sich die Tiere in der Regel vier Mal häuten, das Puppenstadium währt 14—22 Tage.

Die Käfer legen ihre Brutgänge zuerst quer zur Holzfaser an. (Abbildungen von Fraßfiguren.) Die Begattung der Käfer findet in der Weise statt, daß Männchen und Weibchen mit der Abdomenspitze sich gegenseitig berührend, das eine mit der Bauch- das andere mit der Rückenseite der Stammaußenseite zugekehrt im Gange sitzen. Die Eiablage findet in einem oder zwei seitlichen Eilagern des platzförmig erweiterten Muttergangs statt, sie werden in größerer Anzahl zusammengekittet und mit einem Bohrmehlpolster umgeben. Nach der Eiablage stirbt nur ein Teil der Muttertiere ab.

Digitized by Google · Original from UNIVERSITY OF IOWA

ein andrer Teil ist befähigt nochmals Brut zu erzeugen. Zum Schluß faßt Verf. die Ergebnisse seiner Versuche noch einmal übersichtlich zusammen.

Marshall (Halle a. S.)

Kleine, R., Die europäischen Borkenkäfer und ihre Nahrungspflanzen in statistisch-biologischer Beleuchtung. (Berliner entomolog. Zeitschr. Bd. 53. 1908/1909. p. 171—188; 213—232.)

Lassen sich aus dem geologischen Alter der Pflanzen Rückschlüsse auf analoge Verhältnisse bei dem Borkenkäfer ziehen? Verf. antwortet darauf: Es ist kein sicherer Grund vorhanden, aus dem man von dem geologischen Alter der Pflanzen auf ein Analogon beim Käfer schließen könnte, trotzdem die Abhängigkeit der Borkenkäfer von ihren Nahrungspflanzen zweifellos eine sehr bedeutende ist. Die gemachten Funde sind eben leider zu lückenhaft. Wenn die Monokotyledonen die jüngst entstandenen Pflanzen sind, dann darf man annehmen, daß die Käfer in ihrer Entwicklung denen der Pflanzen noch nicht gefolgt sind und auch, was das europäische Gebiet betrifft, wohl kaum folgen werden, da unter den Monocotyledonen kein einziger Baum hier vorhanden ist, da eine Differenzierung der Lebensweise eintrat, nachdem sich die Käfer an Bäume oder baumartige Pflanzen gewöhnten, und da ferner die an Kräutern lebenden Arten wohl nur noch als Relikte einer längst vergangenen Zeitepoche angesehen werden dürfen und eine Zurückdifferenzierung wohl kaum eintreten dürfte. Es ist ja gar nicht unbedingt nötig, daß erdgeschichtlich junge Pflanzen auch die in der Entwicklungsgeschichte vorwärts schreitenden Käfer an sich fesseln müßten. Es steht wohl fest, daß die Borkenkäfer aus Rüsselkäfern direkt oder doch aus einer gemeinsamen Urform entstanden sind, und daß sie zunächst an krautartigen Pflanzen fraßen und erst später das Nadelholz angingen. Die Hylesiniden sind eine sehr alte Gruppe, die Tomiciden eine sehr junge, die auch jetzt noch krautbewohnenden Thamnurgus-Arten haben ihre biologischen Eigentümlichkeiten beibehalten, morphologisch sind sie aber den Tomiciden ähnlich geworden.

In den Tabellen, die recht ausführlich gehalten sind, berücksichtigt der Verf. die Haupt- und die Gelegenheitsnahrungspflanze. Folgendes ergibt sich: Die Eccoptogasteriden gruppieren sich um Ulmaceen, Pomaceen, Fagaceen, die Phleotribini um Oleaceen, Papilionaceen und Nadelhölzer, die Hylesiniden um Oleaceen, Ulmaceen, Papilionaceen und Koniferen, die Crypturgiden (nur mit einer Ausnahme) um die Nadelhölzer, die Cryphaliden gruppieren sich um die Salicineen, Urticaceen, Papilionaceen, Tiliaceen und Koniferen, die Tomiciden leben an Nadelhölzern, Fagaceen, Euphorbiaceen und Ranunculaceen, die Platypodiden an Nadelholz und Fagaceen.

Matouschek (Wien).

Marchal, P., Le borer géant de la canne à sucre. (Journ. d'Agric. trop. 1908. p. 207—208.)

Die Larve der Castnia licus wurde im Jahre 1904 zuerst im englischen Guyana als Schädling bemerkt. Heute ist sie als wohlbekannter Feind vieler Nutzpflanzen im ganzen tropischen Amerika gefürchtet. Sie trat zunächst als Parasit auf Orchideen und Bromeliaceen auf und ist nunmehr auch auf das Zuckerrohr übergegangen. Es steht zu befürchten, daß die Raupe, die jetzt von Mexiko bis Brasilien verbreitet ist, immer mehr Gefallen an dem Zuckerrohr finden und auch noch weiter polwärts vordringen wird, wie es seinerzeit Diatroea saccharalis getan hat, welche von ihrer Heimat (Südamerika) aus allmählich die Antillen und die Vereinigten Staaten von Nordamerika überfallen hat und heute zur Geißel für die Zuckerrohrindustrie geworden ist.

Die Larve von Castnia licus bohrt Gänge von 60 cm und mehr Länge. Die Kinder im englischen Guyana fangen den Schmetterling mit Netzen. Ein anderes Mittel zur Bekämpfung scheint es nicht zu geben.

Der Riesenbohrer wird übrigens in Surinam und Trinidad auch den Bananen sehr schädlich. Herter (Montevideo).

Leonardi, G., Esperienze contro la mosca dell' olivo. (Bull. Offic. Minist. Agric. Serie 2. Anno 8. 1909. Serie C. p. 25—39.)

Verf. wurde 1908 von der Oberkommission offiziell beauftragt, Bekämpfungsversuche der Ölbaumfliege mit der Mischung von Dr. De Cillis in Calabria, Puglia und Toscana auszuführen. Sein Bericht ergänzt den von den Oberkommissären Cuboni, Grassi und Danesi eingereichten.

Die Resultate waren günstig; praktisch wird man aber erst durch allgemeine Anwendung die Fliege ausrotten können, wobei es erst möglich sein wird, mit nur 2—3 Bespritzungen im Jahre auszukommen. Gegen den Rußtau, der ohnehin bei der geringen Anzahl von Bespritzungen nur selten auftreten dürfte, empfiehlt Verf. eine nachträgliche Behandlung mit Bordeaux-Brühe.

Bei solchen Arbeiten war Verf. imstande, einige Angaben, betreffend das Leben der Ölbaumfliege zu berichtigen. Die frühreifen Olivensorten werden nicht immer bevorzugt; die Infektion kann vom Berg zum Seestrand wie umgekehrt fortschreiten. Findet die Fliege andere Zuckerquellen, so berührt sie keineswegs die Giftmischung und kommt zur vollständigen Entwicklung. E. Pantanelli (Rom).

Bayer, Em., Die Zoocecidien der Insel Bornholm. (Verhandl. d. K. K. zool. botan. Gesellsch. i. Wien. Bd. 59. 1909. p. 104—120.)

Während S. Rostrup (1896) nur 10 Formen von Bornholm erwähnt, G. Hieronymus (1890) nur 1, konnte Verf. mit seinem Bruder im ganzen 112 Arten von Gallen aus diesem Gebiete feststellen und zwar auf 64 Wirtspflanzen, wovon 108 Cecidozoën waren. Frühjahrsformen konnten nicht berücksichtigt werden. Das Verzeichnis ist nach den Wirtspflanzen geordnet. Die Gallen werden genau beschrieben.

Matouschek (Wien).

Grevillius, A. Y., Ein Thysanopterocecidium auf Vicia cracca L. (Marcellia. Vol. 8. 1909. p. 37—45, m. 4. Textfig.)

Verf. beschreibt eine nicht gerade seltene Deformation der oberen Blätter von Vicia cracca L. von Kempen (Rheinl.). In der durch die zusammengeneigten Blatthälften gebildeten Höhlung fand er stets Thysanopteren in mehreren Stücken vor; auch Eier waren zu sehen. Enzio Reuter bestimmte das Tier als Physopus basicornis und beschrieb es in obengenannter Zeitschrift (Vol. 8). Rübsaamen teilte ähnliche Deformationen an derselben Pflanze, ferner an anderen Papilionaceen und an Stellaria holostea dem Verf. mit. Anschließend bemerkt Verf. folgendes:

1) Das genaue Studium der Literatur zeigt, daß ein beträchtlicher Teil der bis jetzt bekannten Thysanopterocecidien durch Faltungen der Blätter gekennzeichnet ist, und daß diese natürliche Reihe teils hypertrophielose, teils mit Hyphertropie (resp. Hyperplasie) verbundene Deformationen umfaßt.

2) Es wird an Hand von Beispielen gezeigt, daß Scheidung der Cecidien in echte und in Pseudocecidien (im Sinne Thomas, Marcellia 1902, p. 157) praktisch undurchführbar ist, da viele Cecidien vorläufig noch nicht eingehend studiert wurden und Namen wie Thysanopteropseudocecidium sehr schleppend sind. Denn für so eines müßte, da die Deformation bei Vicia cracca in einer Hypoplasie beruht, das beschriebene Cecidium angesprochen werden. Matouschek (Wien).

Giesenhagen, Über zwei Tiergallen an Farnen. (Berichte d. Deutsch. bot. Gesellsch. Jg. 27. 1909. Heft 6.)

Gallenbildungen bei Farnen sind selten, wo in der Literatur diesbezügliche Angaben stehen, handelt es sich meist um Einrollung des Blattes oder einzelner Abschnitte (z. B. durch Gallmückenlarven) oder um Bräunung und Absterben einzelner Blattflecke (durch Nematoden bei Asplenium bulbiferum). Bei Polypodium Robertianum soll eine Cynipidenlarve Anschwellung des Wedelstielgrundes erzeugen. Verf. beschreibt zweierlei Gestalten von Gallen an Hymenophyllum lineare var. brasiliense, einem Kleinfarne des feuchten Urwaldes, von denen die eine Art an der Blattlamina, die andere am Rhizom steht. Es wird zunächst eine kurze Beschreibung der blattständigen Gallen von Rosenstock zitiert, von dem der Verf. auch das Material erhielt. Diese Gallen treten in zwei Formen auf, als behaarte und als kahle Körper, die letzteren gehen aus den ersteren durch Abfall der Haare hervor. Häufig findet man beide Stadien an demselben Wedel vermischt vor (Fig.). In der Nähe der Rhachis stehende Gallen behalten ihr Haarkleid größeren Teiles auch noch im Alter. An einem Wedel von 15 cm Länge zählte Verf. im höchsten Falle 6 Gallen, auch scheint eine besondere Schädigung der Pflanze durch die Gallen nicht verursacht zu werden. Gestalt und Größe der Gallen sind in allen Fällen unter einander nahezu gleich. Ein dunkelbraunes bis fast schwarzes linsenförmiges Körperchen (Fig.) von weniger als 2 mm Durchmesser sitzt an Stelle eines Fiederblattes an der Blattrippe. An der Ansatzstelle ist es etwas eingekrümmt und so aufgebogen, daß es auf die Fläche des Fiederabschnittes hinaufgerückt erscheint. Die dickste Stelle ist dem Rande des seitlich zusammengedrückten Körperchens genähert und verläuft gegen die Ansatzstelle hin wie ein Wulst. Der dünnere Rand zeigt einen schmalen, blassen Saum, der sich von der Anheftungsstelle der Galle bis auf den gegenüberliegenden Scheitel des Scheibchens hinzieht und hier allmählich verläuft. Das Innere der Galle bildet einen blasenförmigen Hohlraum, dessen Wand ringsum aus einer einzigen Zellschicht gebildet wird. An dem gesäumten Rande liegen die Ränder der Blasenwand, soweit der Saum reicht, einfach lippenförmig auf einander, im übrigen ist aber die Blase ringsherum völlig abgeschlossen. Öffnet man sie gewaltsam von dem Lippenrande her, so zerbricht sie in der Regel in zwei muschelschalenartige Hälften.

Die Entstehung der Galle läßt sich daher so denken, daß ein Fiederabschnitt des Wedels sich an seiner Spitze längs der Mittellinie zusammen-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

gefaltet hat. Die Mittelrippe des Blattes tritt nicht in den gallenbildenden Teil des Fiederabschnittes. Der Mittelnerv des Blattlappens endet plötzlich an der Ansatzstelle der Galle, nachdem er sich durch Ausbildung einiger kurzer Tracheïden etwas verbreitert hat. Das den Tracheïdenstrang der Blattrippe begleitende Parenchym setzt sich vor der verbreiterten Nervenendigung noch fächerförmig über die Fläche der Gallenwand fort, so daß diese in dem halsartig verschmälerten Ansatz zunächst mehrschichtig ist. Im größten Teil ist aber die Gallenwand einschichtig. Die Zellen dieser Schicht entsprechen in Gestalt und Größe etwa den normalen Zellen der Blattfläche, doch sind sie, abgesehen von den Zellen des schmalen Saumes, dunkelbraun gefärbt und am Rande ihre Seitenwände sehr stark verdickt. An dem mehrschichtigen Grunde der Galle zeigen nur die Zellen der äußeren Schicht diese Beschaffenheit, während die die Blasenwand auskleidenden Parenchymzellen ziemlich dünnwandig bleiben. Die unmittelbar über der Nervenendigung liegenden Zellen der inneren Wandfläche sind kleiner und inhaltsreicher als die übrigen. Der Randsaum an dem lippenförmig geschlossenen Rand besteht aus dünnwandigen längs des Randes gestreckten Zellen, die nach außen hin immer schmäler werden. Bei den ähnlichen Indusien von H. lineare zeigten sich die anatomischen Verhältnisse anders, es fehlten hier die dickwandigen Flächenzellen, sowie die gestreckten Randzellen. Es handelt sich also hier um Gebilde, die nur durch Zusammenwirken aller für die Gallenbildung in Betracht kommenden Momente entstehen. In den jüngeren Gallen war meist die weiße Larve des Gallentiers zu finden, die meist in der Nähe der verbreiterten Leitbündelendigung im Basalteil der Galle saß. Verf. hält sie für eine Dipterenlarve. (Fig.) Die Gallen am Rhizom sind sproßständig und stellen braune Pinselquasten von knollenförmigem Umriß dar. Hier tritt anscheinend ein Kahlwerden im Alter nicht auf. Der Gallenkörper ist kreiselförmig, er sitzt entweder mit der verschmälerten Basis auf der Sproßachse, oder läuft am Grunde in einen zylindrischen, dem Rhizom aufsitzenden Stiel aus, endlich kann er auch direkt an der Spitze eines Rhizoms stehen. Der der Anheftungsstelle der Galle gegenüberliegende Scheitel trägt eine runde Öffnung, die durch die am Rande entspringenden Haare verdeckt und verschlossen wird. Diese Öffnung führt in die kugelförmige Larvenkammer. In die Basis der Galle tritt ein vom Leitbündel des Rhizoms abzweigendes Bündel ein, das bei gestielten Gallen den Stiel der Länge nach durchzieht, dies Bündel bleibt indessen auf die Basis der Galle beschränkt. Die ganze Gallenwand besteht aus mehrschichtigen Parenchymzellen. An jungen Gallen sind die Zellen reich an feinkörnigem Plasma und Stärkekörnchen. In älteren Gallen sind die Zellen entleert und geschrumpft, wodurch die Gallenkammer wesentlich größer wird. Die Haare bilden einen dichten Filz über die ganze Außenfläche und sind mehrzellig und verzweigt. Die Seitenäste des Haares entspringen hier in verschiedener Höhe und sind alle gleichgerichtet, ein Gegensatz zu den normalen Sternhaaren des H. lineare. Auch hier dürfte das Tier in der Larvenkammer eine Dipterenlarve sein. Zweifellos sind diese Gallen Sproßspitzengallen, die aus dem Vegetationspunkt des Hauptsprosses oder seiner Seitenverzweigungen hervorgegangen sind. Daß die Gallenerreger bei beiden Gallenformen identisch sein könnten, weist Verf. als höchst unwahrscheinlich nach. Zum Schluß erwähnt Verf. auch ähnliche Rhizomgallen an Hymenophyllum Ulei, die er früher für Organe der Wasserversorgung hielt, die aber offenbar als Gallen anzusprechen waren.

Marshall (Halle a. S.)

Digitized by Google · Original from UNIVERSITY OF IOWA

Migliorato, Ermino, Contribuzioni della teratologia vegetale. V. Epiascidii apicali fogliari di Smilax aspera L. — VI. Anomalie fiorali e dei frutti di varie specie d'Eucalyptus. (Annali di Botanica. Vol. 7. Roma 1909. p. 281—290, 331—337, c. 3 tav.)

Behandelt werden die schlauchförmigen Blattbildungen bei Smilax aspera. Schon 1897 machte Verf. in seiner Arbeit: Secondo elenco di anomalie vegetali (Bull. Soc. Bot. ital. 1897. p. 8) auf eine solche Abnormität aufmerksam. In Tabellen beschreibt er nun die einzelnen Fälle, welche die verschiedenen Grade der Blatteinrollung klarlegen. Trinchieri glaubte, die Krümmung der Blattränder erfolge durch eine Zusammenziehung der Teilchen des Blattes; auch an ein Übermaß von Nahrung könnte man denken. Verf. stellt als Ursache aber die Druckbildung bei der Entfaltung der Blätter für die Ursache hin. Die Tafeln zeigen uns die mannigfachen Fälle der schlauchförmigen Ausbildung der Blätter. Die Bezeichnung der Tafeln ist zu vertauschen. Im 6. Teile schreibt Verf. über Anomalien bei Blüten und Früchten diverser Eucalyptus-Arten: teilweise und völlige Verwachsungen, Syncarpie, Polymerie. Matouschek (Wien).

Döring, Anormale Blütenstände von Zea Mais und Pelorien von Linaria vulgaris. (Mitt. d. thüring. botan. Ver. N. F. Heft 25. Weimar 1909. p. 67.)

Erstere Pflanze zeigte im Blütenstande ♂ und ♀ Blüten vereinigt, letztere Pelorien mit Übergängen der typischen Blüten zu diesen.
Matouschek (Wien).

Keißler, K. von, Monströse Wuchsformen von Polyporus Rostkovii Fr. (Annalen des k. k. naturhist. Hofmus. Wien. Bd. 22. 1907/08. p. 143—144. Mit 1 Tafel.)

In einem Keller Niederösterreichs fand man eine sonderbare Wuchsform des Pilzes, die Verf. genau beschreibt. Reichardt hat 1866 ähnliches beschrieben. Er rechnet zu obengenanntem Pilze auch die von Boston als Boletus rangiferinus beschriebene Form.
Matouschek (Wien).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Bokorny, Th., Formaldehyd und Hefe. (Wettendorfers Zeitschr. f. Spir.-Ind. 1909. Aug.)

Der Formaldehyd, eine von Liebig vor mehr als einem halben Jahrhundert künstlich hergestellte organische Substanz, verspricht einer der wichtigsten chemischen Stoffe zu werden. Er wird als Zwischenglied bei der Assimilation der Kohlensäure in grünen Pflanzen angenommen (A. v. Baeyer) und soll nun auch bei der Zymase-Gärung auftreten. Lebedow (Biochem. Zeitschr. 1909) will ihn im Hefepreßsaft, als Produkt der Zymasegärung gefunden haben. Zum Nachweise verwendete er a) Dimethylhydroresorcin, b) p-Nitrophenylhydrazin, c) Dimethylanilin, letzteres Tetramethyldiamidodiphenylmethan liefernd, welches auf dem mit Essigsäure befeuchteten Filter in Berührung mit Bleisuperoxyd intensiv blaue Färbung liefert, d) mit Dihydrazindiphenyl. Alle Reaktionen wurden nach Entfernung der Eiweißkörper angestellt, sie sollen die besten Formaldehydreagentien sein. Nach meinen eigenen Beobachtungen gibt es so empfindliche Reagentien auf Formaldehyd, wie sie zum Nachweis in lebenden Zellen oder in organischen Flüssigkeiten gebraucht werden, fast nicht. Denn die Zelle produziert einen giftigen Stoff niemals in höherer Konzentration, als sie ihn vertragen kann. Nun ist aber 0,01 Proz. Formaldehyd, ja noch weniger schon, tötlich für lebende Zellen und schädlich für Fermente. Algen und Pilze werden nach meinen Versuchen durch 0,01 Proz. Formaldehyd zum Absterben gebracht; erst bei etwa der fünffachen Verdünnung schadet derselbe nicht mehr.

Wenn man ½ gr frischer Preßhefe in einer Schale mit 200 ccm einer 0,05-proz. Formaldehydlösung übergießt, dann 30 Stunden lang stehen läßt, so merkt man nachher bei Versuchen mit zuckerhaltigen Nährlösungen, daß nicht bloß die Hefe abgestorben, sondern auch das Gärvermögen verschwunden ist. Also kann im Hefepreßsaft unmöglich 0,05 Proz. Formaldehyd vorhanden sein, vorausgesetzt, daß der Formaldehyd, wie angenommen wird, darin ein Produkt der Zymasetätigkeit ist; denn die Zymase würde sich selbst vernichten, wenn sie 0,05 Proz. Formaldehyd produzieren würde. Es handelt sich jedenfalls um kleinere Mengen Formaldehyd, wenn die Anwesenheit im Hefepreßsaft festgestellt ist. Am besten würde man wohl eine Destillation und damit eine Konzentrierung des Formaldehyds vornehmen, um denselben nachzuweisen; im Destillat müßten dann die Formaldehydreagentien Aufschluß geben. Autoreferat.

Höft, H., Die Konservierung von Butter und Käse. (Konservenzeitung. Jg. 10. 1909. No. 15 u. 16.)

Zusammenstellung der in der Praxis üblichen und bekannten Verfahren zur Konservierung von Butter und Käse.

Wedemann (Gr.-Lichterfelde).

Hesse, Luise, Wie muß man Gemüse sterilisieren? (Frischhaltung. 1909. p. 274.)

Allgemeine Vorschriften zur Konservierung verschiedener Gemüse mit Hilfe des Wekschen Gemüsedämpfers.

Wedemann (Gr.-Lichterfelde).

Netopil, J., L. Fulmek, B. Wahl und **H. Zimmermann,** Das Karbolineum als Pflanzenschutzmittel. (Zeitschr. f. d. Landw. Versuchswesen in Österreich. Jg. 12. 1909. p. 513.)

Die von Netopil durchgeführten chemischen Untersuchungen von 13 Karbolineen zeigten, daß diese Produkte nicht als vertrauenswürdig und als empfehlenswert bezeichnet werden konnten. Allen Karbolineen gemeinschaftlich ist die Eigenschaft, die Kautschukwicklungen und Schläuche der Spitzen zu zerstören. Ferner ist klar und naheliegend, daß die übertriebenen, mit marktschreierischer Reklame angekündigten Wirkungen des Karbolineums der Wahrheit nicht entsprechen können. Seitens der anderen genannten Autoren wurden ausgedehnte, mehrjährig fortgesetzte praktische Versuche mit Karbolineum im Obstbau ausgeführt, um zu erforschen, inwieweit verschiedentlich ausgesprochene günstige Urteile auf Wahrheit beruhen oder nicht. Ursprünglich wurden die Bäume mit verschiedenen Karbolineumsorten in hochprozentiger Emulsion angestrichen, doch mussten, wegen etwaiger Schädigung des Baumes, die Versuche mit schwächeren Lösungen fortgesetzt werden, die schließlich zu dem Resultate führten, daß das Anstreichen der Bäume unter Schonung der Knospen häufig überhaupt unmöglich ist, in allen Fällen aber als umständlich, zeitraubend und kostspielig erscheint, infolgedessen bei den weiteren Versuchen nur Bespritzungen mit Karbolineumemulsionen zur Anwendung kamen. Da sich verschiedene Sorten von Karbolineum in ihrer Wirkung auf die Pflanzen und auf deren Schädlinge durchaus nicht gleich verhalten (darin liegt auch die Erklärung, warum manche Obstzüchter bei der Anwendung von Karbolineum gewisse günstige Eigenschaften und Wirkungen zu beobachten glaubten, während andere Züchter hingegen nur von schweren Beschädigungen der Pflanzen zu berichten wußten), so wurden die Versuche nicht nur auf eine größere Zahl von Versuchsobjekten (Äpfel, Birnen, Kirschen und Pflaumen), sondern auch auf eine größere Zahl (im ganzen 12) Karbolineumsorten ausgedehnt. Die Freilandsversuche bestanden aus einer einmaligen Winterbespritzung in der Zeit zwischen 30. März und 2. April und einer zweimaligen Sommerbespritzung in der zweiten Hälfte Mai und zweiten Hälfte Juni. Da bei der Sommerbespritzung relativ häufig Schädigungen beobachtet wurden, wogegen die insekticide und fungicide Wirkung sehr zu wünschen übrig ließ, so kann dieselbe nicht empfohlen werden. Der zu erhoffende Nutzen ist nur ein geringer und läßt sich mit anderen Mitteln (Kupferkalkbrühe gegen Schorf, Quassiabrühe gegen Blattläuse usw.) besser und sicherer erreichen. Aber auch bei der Winterbehandlung ist das Karbolineum durchaus kein Allheilmittel gegen „Ungeziefer aller Art“; sondern es ist, wie so viele andere nur ein Mittel, welches bestenfalls zur Bekämpfung einzelner bestimmter Schädlinge verwendet werden kann und daher die Anwendung anderer Mittel durchaus nicht überflüssig macht. Vor allem aber liegt, wenn eben nur einzelne Schädlinge mit Karbolineum vernichtet werden können, kein Grund vor, dasselbe als alljährlich anzuwendenden Anstrich zu empfehlen. Dazu kommt, daß die Emgulierung und deren Dauerhaftigkeit vielfach zu wünschen übrig läßt und daß in der Praxis des Pflanzenschutzes in manchen Fällen leicht Schädigungen hervorgerufen werden können, wenn das Karbolineum längere Zeit in den Mischbottichen oder in den Spritzen ruhig steht, da dann häufig Entmischungen der Emulsionen eintreten werden. Auch der unverhältnismäßig hohe Preis mancher wasserlöslicher Karbolineumsorten steht der Anwendung hindernd im Wege. Zieht man endlich den Umstand in Betracht, daß das Karbolineum infolge seiner Herstellungsweise selbst in einer und derselben Fabrik stets gewissen Schwankungen hinsichtlich seiner Zusammensetzung unterworfen ist, so darf man sich nicht der Erwägung verschließen, daß man bei der Anwendung im Obstbau stets Überraschungen ausgesetzt ist, welche manchmal recht unliebsam werden können. Das trifft vor allem für die Sommerbehandlung zu und auch für die Winterbehandlung mit hochprozentigen Emulsionen oder mit reinem, d. h. unverdünntem Karbolineum.

Stift (Wien).

Porchet, Fd., Contribution à l'étude de l'adhérence des produits cupriques. (La terre vaudoise. Chronique agricole. 1909. p. 45.)

Verf. untersucht den Einfluß der Konzentration der Kupfersulfatlösung auf die Haftfestigkeit dieser Spritzflüssigkeit an Rebenblättern. Zu diesem Zwecke wurden im Rebberg 6 Versuchsparzellen mit Bordeauxbrühe von 3, 2 und 1 Proz. und mit „Verdet neutre“ von 2, 1 und ½ Proz. bespritzt. Von Zeit zu Zeit entnahm der Verf. den Versuchsreben Blätter und bestimmte nach dem Veraschen in den Proben den Kupfergehalt durch Elektrolyse.

Schon nach einigen Gewitterregen, 5 Tage nach Versuchsbeginn, war in allen Fällen der größte Teil des Kupfers abgewaschen; der Prozentsatz des haften bleibenden Kupfers nahm mit steigender Konzentration der verwendeten Lösung stets bedeutend ab. Die 2-proz. Bordeauxbrühe erscheint dem Verf. als die zweckmäßigste Spritzflüssigkeit gegen den falschen Mehltau der Rebe. Schneider-Orelli (Wädenswil).

Appel, Ergebnisse eines Versuches zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes. (Illustr. landw. Zeitung. Jg. 29. 1909. No. 55.)

Die Bekämpfung des Gerstenflugbrandes durch Erhitzung trockener Gerste ist nach den von dem Verf. angestellten Versuchen nicht zu empfehlen, da eine Brandverminderung nur nach vorangegangener Erhitzung des Saatgutes bei einer Temperatur möglich ist, bei der auch eine erhebliche Herabsetzung der Keimfähigkeit des Kornes selbst eintritt. Die Versuche, im vorgequellten Korn das Flugbrandmyzel durch Hitze abzutöten, ergaben durchschlagende Erfolge. Es können nicht nur Temperaturen bis 60° C, sondern auch höhere Hitzegrade herangezogen werden, doch sind die Durchlaufzeiten entsprechend zu kürzen. Schaffnit (Bromberg).

Strube, Züchterische Maßnahmen zur Bekämpfung des Staubbrandes beim Weizen. (Illustr. landwirtschaftl. Ztg. Jg. 29. 1909. p. 664.)

Da bis jetzt in der Praxis beim Staubbrand des Weizens sämtliche Spritzverfahren versagt haben, die Entfernung kranker Pflanzen bedeutende Mühen verursacht, so hat sich Verf. zur Bekämpfung dieser Krankheit die Tatsache zu nutzen gemacht, daß manche Zuchtlinien eine auffallend geringe Neigung zur Infektion zeigen. Bisher ausgeführte Versuche lassen erkennen, daß es sehr gut möglich ist, den Staubbrand in der Linienzüchtung erheblich einzuschränken. Wenn jedoch andere Linien trotz größeren Prozentsatzes an Staubbrand sich als wertvoller erweisen, so ist es Aufgabe des Züchters, nicht einseitig der Krankheit zu leide, seine Selektion auszuführen, sondern sein Hauptaugenmerk auf die Ertragsfähigkeit und die Lagersicherheit zu richten. Eine weitere Möglichkeit gegen den Staubbrand vorzugehen, wäre der Versuch, die Eliten künstlich zu infizieren, um einen möglichst hohen Prozentsatz Brand zu erhalten. Die eventuell gesund bleibenden Pflanzen könnte man vielleicht, wenn man die künstliche Infektion wiederholte, in ihrer Nachzucht immun gegen den Staubbrand machen. Es könnte dies aber nur räumlich weit entfernt von den nach den anderen Gesichtspunkten bearbeiteten Parzellen ausgeführt werden. Dieses Mittel ist aber sehr gefährlich, wobei auch zu bedenken ist, daß Appel analoge Versuche erfolglos mit dem Steinbrand gemacht hat. Wenn Verf. nun auch bei den dem Züchter zu Gebote stehenden Bekämpfungsmitteln kaum glaubt, daß es gelingen wird, durch rein züchterische Maßnahmen ein vollständig staubbrandfreies Saatgut zu bekommen, so wird man aber doch im Stande sein, den Brand auf ein Minimum zu reduzieren. Stift (Wien).

Chuard, E., La lutte contre le Mildiou. Emploi d'oxychlorure de cuivre. (Revue de viticulture. T. 31. 1909. p. 353.)

Im September 1909 ist es 25 Jahre her seit der ersten Veröffentlichung, welche auf die Bedeutung von kupferhaltigen Mitteln für die Bekämpfung des falschen Rebenmeltaues aufmerksam machte. Von einigen Modifikationen abgesehen, ist die Spritzflüssigkeit seitdem die gleiche geblieben, ein Gemisch von Kupfersulfatlösung und gelöschtem Kalk. Trotzdem Verf. die Wirksamkeit der Bordeauxbrühe anerkennt, befriedigt ihn das bisherige Verfahren doch nicht ganz.

Er macht nun den Vorschlag, die Bordeauxbrühe durch Kupferoxychlorid, welches durch das elektrolytische Verfahren von H. Granier im Großen hergestellt werden kann, zu ersetzen.

Dieses grünliche unlösliche Pulver kann ohne weitere Vorbereitung kurz vor dem Gebrauch in der Rebenspritze im Wasser verteilt werden (75 g in 15 l); dazu kommt der weitere Vorteil, daß — bei gleicher Wirksamkeit gegen die Plasmopara — durch das neue Verfahren dem Weinberg nur halb so viel Kupfer zugeführt wird, wie bei einer Bespritzung mit 2-proz. Bordeauxbrühe. Die Haftfestigkeit des Kupferoxychlorids soll ebenfalls eine gute sein.

Die seit 1905 ausgeführten Versuche sollen im Sommer 1909 nun im Großen wiederholt werden. Von dem Ergebnis wird dann die Entscheidung abhängen, ob das Kupferoxychlorid wirklich der Bordeauxbrühe überlegen ist und Eingang in die Praxis verdient.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Fedele, Vinc., Daremo lo zolfo ai boschi? (Il Coltivatore. Casale Monferrato. Vol. 54. 1908. p. 405—406.)

Um die Mitte des Sommers 1908 wurde zuerst in den nördlichen, dann in den südlichen Provinzen Italiens der Eichenmeltau gemeldet. Verf. traf ihn auf Quercus pedunculata, sessiliflora und cerris an, immun waren Quercus ilex und suber. Er berichtet von sehr starkem Befall; manche Bäume sahen wie mit Schnee bedeckt aus. Infolgedessen sei auch der Schaden ein beträchtlicher. Schwefeln zeigte günstige Wirkung. Herter (Montevideo).

Keißler, K. von, Über Sclerotinia ecchinophila Rehm. (Annal. des k. k. naturhist. Hofmus. Wien. Bd. 22. 1907/08. p. 145—146.)

In Ungarn fand Verf. den genannten Pilz auf Fruchthüllen der Castanea vesca (in Gesellschaft von Trichopeziza aranea). Die Becher entwickeln sich aber nicht nur an der Innenseite, sondern auch an der Außenseite zwischen den Stacheln, wobei folgende Unterschiede stattfinden: Bei ersteren ist der Stiel dünn, sehr lang, die Fruchtscheibe klein, von heller Farbe; bei letzteren ist der Stiel dick, kurz, die Scheibe größer und dünkler. Die Diagnose des Pilzes wird auch in anderen Punkten ergänzt. Matouschek (Wien).

Hiltner und **Lang,** Empfiehlt sich die Verwendung von Kalkstickstoff oder Kupfervitriol zur Hederichbekämpfung? (Prakt. Blätt. f. Pflanzenbau und Pflanzenschutz. 1909. p. 25.)

Bei vergleichenden Bespritzungsversuchen auf einem massenhaft mit Hederich und Ackersenf bestandenen Feldstück verfuhren die Verff. in folgender Weise:

Parzelle	1:	Unbespritzt.			
„	2:	Bespritzt mit	10	Proz.	Kalkstickstoffbrühe,
„	3:	„ „	2	„	Kupfervitriollösung,
„	4:	„ „	4	„	Kupfervitriollösung,
„	5:	„ „	20	„	Eisenvitriollösung.

Von jedem der angegebenen Spritzmittel wurden auf 1 ha 600 l verwendet; die auf diese Fläche in der 10-proz. Brühe aufgebrachte Menge von Kalkstickstoff betrug demnach 60 kg. Die Bespritzung erfolgte am 19. Mai, als die Hederichpflanzen sich meist im Anfang der Blüte befanden. Trotz dieser schon sehr weit vorgeschrittenen Entwicklung brachte die Eisenvitriollösung eine durchschlagende Wirkung hervor. Kalkstickstoff hatte wohl den Ackersenf stark geschädigt und zum Teil vernichtet, dem echten Hederich aber nur wenig geschadet. Die Anwendung konzentrierterer Brühen halten die Verff. wegen der Giftwirkung des Calciumcyanamids auf das Getreide nicht für ratsam. Kupfervitriol dürfte vor dem Eisenvitriol kaum Vorteile bieten, denn wenn auch weit geringere Konzentrationen zur Erzielung guter Erfolge ausreichen — die Wirkung der 4-proz. Lösung war gut, die der 2-proz. ungenügend — so kommt doch das Verfahren in Anbetracht des erheblich höheren Preises des Kupfervitriols nicht billiger und außerdem könnte es wohl kaum gut geheißen werden, daß alljährlich auf die Ackerböden so große Mengen von Kupfersalzen gebracht würden. Vogel (Bromberg).

Szomjas, Gustav von, Von der Vogelwelt verhinderter Raupenfraß. (Aguila. Budapest. T. 15. 1908. p. 306—307.)

Mamestra persicariae verwüstete als Raupe die Flachsfelder des Verf. Die Saat wurde gemäht, aber die Raupen zogen sich auf ein benachbartes Tabakfeld, welches sie zu verwüsten drohten. Sperlinge und Haushühner aber fraßen sie in Gesellschaft mit Krähen weg, so daß der Tabak gerettet wurde. Matouschek (Wien).

Schwartz, Mittel gegen schädliche Insekten. (Mitt. aus der K. Biol. Anstalt. Heft 8. 1909 p. 39.)

Versuche mit verschiedenen Karbolineumpräparaten zeigten, daß eine Winterbehandlung mit konzentriertem Karbolineum die Bäume im Sommer nicht gegen Blutlausbefall schützt, dagegen Schädigungen der Pflanzen hervorrief. Wasserlösliche Karbolineumsorten erwiesen sich zur Winterbehandlung ungeeignet; als Spritzmittel im Sommer versagten sie vollständig.

Antisual tötete zwar die Läuse schnell, ohne anscheinend den Pflanzen zu schaden; während des Winters oder spätestens im folgenden Jahre starb aber die Rinde an den behandelten Stellen ab, kleinere Bäume gingen gänzlich ein.

Als unbrauchbar erwiesen sich noch verschiedene andere der geprüften Mittel: Dr. Guichards „Blutlaustod“, Wagolin, Isiol, Fichtenin, Markasol, Lauril-Harzölseife, Tetraemulsion. Dagegen bewährten sich Tabakextrakt „Excelsior“ und „Nicotine titrée“.

Riehm (Groß-Lichterfelde).

Henshaw, H. W., Value of swallows as insect destroyers. (Unit. Stat. Dep. Agric., Bur. Biol. Surv., Circul. No. 56. 1907.)

Das Zirkular soll den großen Wert der Schwalben als Insektenvertilger überhaupt, insbesondere aber im Kampfe gegen den cotton boll weevil hervorheben, da dieser Schädling der Baumwollstaude sich allem Gegenarbeiten zum Trotz langsam aber stetig weiter ausbreitet. Unter den 38 Vogelarten, welche, wie die Untersuchungen gezeigt haben, wichtig im Kampfe dagegen sind, zeichnen sich die Schwalben besonders aus. Verf. nennt die einzelnen Schwalbenarten mit ihren Vulgärnamen und äußert sich dahin, daß durch geeignete Gesetze die Schwalben des Südens und auch die nördlichen, als Wandergäste in Betracht kommenden, geschützt werden müßten. Ein schlimmer Konkurrent der Schwalben sei der Sperling und ihrer Ausbreitung überaus hinderlich. Künstliche Ansiedlung der Schwalben, welche versucht worden ist, indem man sie nebst den Jungen bei Nacht in ihren Nistgelegenheiten an die betreffende Stelle transportierte, gelingt schwer. — Die Wichtigkeit der Schwalben für die Bekämpfung des cotton boll weevil beruhe besonders darauf, daß kein anderer Vogel so imstande sei, Insekten im Fluge zu fangen, wie die Schwalben. Man hat im Magen einer cliff swallow 47 Exemplare der Imago des vorgenannten Schädlings gefunden.

K. Friederichs (Berlin).

Henshaw, H. W., Birds useful in the wars against the cotton boll weevil. (U. S. Dep. Agric., Bur. Biol. Surv. Circul. No. 57, 1907.)

Das Zirkular macht auf die große Bedeutung aufmerksam, welche die insektenfressenden Vögel im Kampfe gegen den cotton boll weevil haben. Es kommen, wie sich durch Magenuntersuchungen gezeigt hat, eine sehr große Anzahl von Spezies in Frage. Als sehr wichtig haben sich neben andern Vögeln besonders die Pirolarten gezeigt. Unstreitig den ersten Platz in der Bekämpfung der Schädlinge nehmen jedoch die Schwalbenarten ein. Dieser Tatsache wird in landwirtschaftlichen Kreisen noch nicht genügende Rechnung getragen, und die Schwalben genießen nicht in dem Maße Schutz und Förderung, wie sie es verdienten. An einzelnen Stellen hat man versucht, die Schwalben neu einzuführen bezw. die vorhandenen Kolonien zu verstärken, indem man während der Nacht die Schwalben samt Nestern und Jungen an den betreffenden Ort transportierte, jedoch nur teilweise mit Erfolg.

K. Friederichs (Berlin).

Hunter, W. D., The most important step in the control of the boll weevil. — (Unit. Stat. Dep. Agric., Bur. Entom. Circul. No. 95. 1907.)

Es wurde in den Veröffentlichungen des Unit. Stat. Department of Agriculture, welche den boll weevil betrafen, schon mehrfach darauf hingewiesen, daß der wichtigste Schritt in der Bekämpfung der Schädlinge die Vernichtung der Pflanze im Herbst ist. Ein Experiment aus dem Jahre 1906 beweist dies aufs glänzendste. Auf einem abseits von allen anderen Baumwollpflanzen gelegenen, ca. 160 ha (400 acres) großen Felde wurden im Herbst die Pflanzen sorgfältig verbrannt. Im Mai 1907 wurde festgestellt, daß auf diesem Felde beinahe gar keine boll weevils vorhanden waren. Ein 30 Meilen davon gelegenes Feld hingegen, das nicht so behandelt war, zeigte sich stark von den Stengelwürmern besetzt. Das Verhältnis der Erträge der beiden Felder war 3 : 1. Es kann also kein Zweifel bestehen, daß das Verbrennen der Baumwollpflanzen im Herbst sehr viele der Schädlinge tötet, und zwar um so mehr, je früher es geschieht. Den Beweis für letzteres lieferte folgendes Experiment: Eine Anzahl Baumwollstauden wurden durch große Käfige eingeschlossen (20 × 40 Fuß) und Tausende von den Schädlingen daraufgesetzt. Die Pflanzen in den verschiedenen Käfigen wurden nun zu verschiedenen Zeiten — von Oktober bis November — verbrannt. Die Zahl der im nächsten Jahr vorhandenen Stengelwürmer schwankte dann zwischen 2,5 und 14,7 Proz. der ursprünglich eingesetzten, und zwar war die Zerstörung um so radikaler, je früher die Verbrennung stattgefunden hatte. Um dies in die Praxis übersetzen zu können, sollte man möglichst früh anpflanzen und möglichst früh reifende Varietäten wählen. — Zur Vernichtung wurden die Pflanzen entweder ausgezogen oder herausgepflügt, zusammengeharkt und, wenn nötig nach Übergießen mit Öl usw., verbrannt.

Ref. hat Vorstehendes etwas genauer auseinandergesetzt, weil das Mittel des gründlichen Abräumens der Felder im Herbst durch Verbrennen wegen seiner Einfachheit ein wirklich für die Praxis geeignetes sein könnte. Aber gleichwohl fehlt es nicht an Schwierigkeiten bei der Durchführung. Der Pächter einer Ernte überläßt nämlich jedesmal das Fortschaffen der Pflanzen seinem Nachfolger. Hier müßte durch Aufnahme geeigneter Bestimmungen in die Pachtverträge Wandel geschaffen werden.

Außer dem Verbrennen der Pflanzen kommt auch das Weiden von Vieh auf den Feldern in Betracht. Es soll aber erhebliche Verunkrautung die Folge sein durch Einschleppung von Unkraut- und Gräsersamen mit dem Vieh.

K. Friederichs (Berlin).

Grassi, B., La lotta contro la fillossera. (Bull. Off. Minist. Agric. Serie II. Anno 7. Vol. 2. 1908. Fasc. 3. Vortrag gehalten auf der Generalvers. d. ital. landw. Ges. in Rom.)

Aus den Beobachtungen und Versuchen von Grassi und seinen Mitarbeitern Foà und Grandóri, die seit 1905 auf der Reblauswarte in Fauglia (Pisa) und den k. Rebschulen in Sizilien fortgesetzt werden, ergibt sich zunächst, daß sich die Reblaus in geschlossenen Behältern mehrere Jahre hindurch ohne Mitwirkung der Geschlechtsformen und ohne Schwächung des Fortpflanzungsvermögens zu vermehren vermag.

Die aus dem Winterei entstandene Larve, welche die Gallenlaus auf amerikanischen Reben liefert, geht nicht auf die Wurzeln über. Andernteils können die gallenbewohnenden Formen der ersten Generationen die Wurzeln europäischer Reben niemals infizieren. Unter den Gallenläusen treten aber ab und zu solche mit Wurzellausmerkmalen auf, die sich sofort nach den Wurzeln begeben.

Die Flügelformen entstehen nur aus der Wurzellaus und nur die neugeborenen Wurzelläuse vermögen durch Wanderung auf der Bodenoberfläche in heißen Sommertagen die Wurzelkrankheit zu verbreiten.

Im zweiten Teile seines Vortrages zeigte Grassi, wie das Destruktionsverfahren nur große Unkosten gebracht hat und die Reblausverbreitung nur teilweise hemmen konnte. Verf. verteidigt die Bildung der obligatorischen, subventionierten Reblausvereine (wovon bereits 50 vorhanden sind), wodurch die Regierung von der immer anwachsenden Verantwortlichkeit beim Kampf und der Rekonstitution entladen wird; empfiehlt eine bessere Belehrung der Bauernkreise durch Reblauskurse und regt strengere Gesetzmittel gegen die bewußtlose Verbreitung infektiver Materialien an. Desinfektionshallen, wo die Arbeiter ständig desinfiziert werden, haben sich gut bewährt.

Destruktion ist nur bei dreijährigen Herden ratsam. Sulfidkur ist aus mehreren Gründen nicht anzuraten.

Um die Widerstandsfähigkeit amerikanischer Unterlagen zu prüfen, darf man nicht infizierte Wurzelstücke, sondern Gallen anwenden, welche die sporadischen Wurzellausformen enthalten. E. Pantanelli (Rom).

Faes, H., Désinfection des plantes de vignes racinés et la propagation du phylloxéra. (La terre vaudoise. Chronique agricole. 1909. p. 58.)

Auf Anregung der Station viticole in Lausanne schreibt die Landwirt-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

schaftsdirektion des Kantons Waadt vor, daß alle jungen bewurzelten, aus Rebschulen in den Handel gelangenden Reben vor dem Verkaufe desinfiziert werden müssen, um Reblausverschleppungen möglichst zu verhindern. Das Desinfektionsverfahren besteht in einem 12stündigen Eintauchen in eine Lösung von 3 Proz. sulfokohlensaurem Kalium (32° Be) + 1 Proz. Seife während der Ruheperiode der Reben; dasselbe hat sich sowohl gegen die fertigen Insekten als auch gegen die Eier als absolut wirksam erwiesen, während die Pflanzen bei dieser Behandlung keinen Schaden nehmen.

Wenn es auch nicht mehr möglich ist, das allmähliche Vordringen der Phylloxera ganz zu verhindern, so handelt es sich doch darum, Zeit zu gewinnen für eine normale richtige Rekonstruktion der Weinberge.

Schneider-Orelli (Wädenswil).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Benecke, W., Die von der Cronesche Nährsalzlösung. (Zeitschr. f. Botan. Bd. 1. 1909. p. 235—252.)

G. von der Crone empfahl 1904 auf Grund von Untersuchungen über die Wirkung der Phosphorsäure auf die höhere Pflanze eine neue Nährlösung, die sich von der Knopschen, Mayerschen und Pfefferschen dadurch unterscheidet, daß sie Phosphat nur in Form des schwer löslichen Ferro- und Tertiärcalciumphosphates, nicht aber als Kaliumphosphat enthält. Mit der Sachsschen ist sie insofern verwandt, als man ja zu ihr das Eisen als Ferrophosphat gibt; allerdings geht ihr Phosphat in Form von Kaliumphosphat ab. Crone beobachtete nie eine Chlorose bei seinen Versuchspflanzen (Rebe, Gerste, Buchweizen usw.), er sah, daß Pflanzen in phosphathaltigen Nährlösungen chlorotisch wurden, nicht aber in phosphatfreien; den naheliegenden Gedanken, daß das Phosphat das Eisen aus der Nährlösung ausgefällt und dadurch eine typische, durch Eisenmangel bewirkte Chlorose indirekt herbeigeführt habe, ließ er fallen, da fraktionierte Darbietung von Eisen die Chlorose nicht heilte, statt dessen glaubte er an seine in unbekannter Weise durch den Überschuß an gelösten Phosphaten bewirkte, vom Eisenmangel unabhängige Chlorose und stellte über ihre Ätiologie systematische Versuche an. Benecke hat aber bereits 1905 die Frage aufgerollt, ob diese Art der Chlorose nicht dennoch auf Eisenhunger zurückzuführen sei. Um diese Frage zu erledigen, unternahm Verf. Versuche, dahingehend,

1) ob in solchen Lösungen, in denen Crone Chlorose eintreten sah, eine verminderte Löslichkeit des Eisens im Vergleiche mit guten Nährlösungen nachweisbar ist. Es gelang Verf. der Nachweis, daß Zufuhr löslicher Phosphate (auch des saueren Kaliumphosphates) zu Nährlösungen, welche Eisenphosphat führen, eine verminderte Löslichkeit des Eisens bedingt. Wie die Phosphate in der Nährlösung außerhalb der Pflanze die Aufnahme des Eisens erschweren oder verhindern können, kann wahrscheinlich auch reicher Phosphatgehalt des Zellsaftes (zumal wenn in diesem noch andere die Löslichkeit des Eisens herabsetzende Bedingungen vorhanden sind), die Weiterleitung und Verarbeitung des Eisens in der Pflanze erschweren oder unmöglich machen und so Chlorose hervorrufen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

2) und wie sich die Ergebnisse vergleichender Versuche gestalten, in welchen Pflanzen nebeneinander in der von der Croneschen und anderen älteren Nährlösungen gezüchtet wurden.

Maissorten werden wegen Eisenhungers chlorotisch, wenn man die Lösung nicht ansäuert. Es empfiehlt sich durch weitere Versuche, diese Erfahrungen zu ergänzen und die von der Cronesche Nährlösung durch geeignete Veränderungen (z. B. durch Weglassen des Calciumphosphates) auch für solche Pflanzen geeignet zu machen, die sich verhalten wie der Mais in den Versuchen des Verf. Die Pfeffersche Nährlösung hat sich sehr gut bewährt. Der Chlorose erregende Einfluß löslicher Phosphate ist von von der Crone überschätzt worden. Das hat namentlich seinen Grund darin, daß er statt des primären Kaliumphosphats eine Mischung des primären und sekundären verwendete. Matouschek (Wien).

Brezina, E., Über die Verwertbarkeit der Sauerstoffzehrung in der Methodik der Wasser- und Abwasseruntersuchung. (Wiener klin. Wochenschr. Jg. 21. 1908. No. 44.)

Angeregt durch die günstigen Erfahrungen, die Spitta (Arch. f. Hyg. Bd. 46) und Brezina (Zeitschr. f. Hyg. 1906) bei Untersuchungen über die Selbstreinigung der Flüsse machten, studiert B. die Sauerstoffzehrung von Wasserproben bei längerem Stehen auf ihre Verwertbarkeit für Wasser- und besonders Abwasseruntersuchungen. Von den gebräuchlichen Methoden zur Bestimmung der organischen Substanz durch Ermittlung des Glühverlustes und des Kaliumpermanganat-Verbrauches hat letztere neben ihren Vorzügen den Nachteil, daß bei Gegenwart größerer Mengen suspendierter Stoffe die Bestimmung nur nach vorherigem Filtrieren hinreichend genau ausgeführt werden kann. Durch diese Filtration werden aber die für die Beschaffenheit des Wassers so wichtigen Schwebestoffe hinsichtlich ihres Gehaltes an organischer Substanz nicht berücksichtigt (Rubner, Arch. f. Hyg. Bd. 46). Weiter werden alle organischen Stoffe ohne Unterschied der Rolle, die sie als Wasserverunreiniger spielen, bestimmt und schließlich leidet bei sehr großer Verunreinigung die Genauigkeit der Methode dadurch, daß nur sehr kleine Probenmengen zur Bestimmung des Permanganat-Verbrauches verwendet werden können.

Die Bestimmung der Sauerstoffzehrung ist nun als eine Ergänzung der Permanganatmethode gedacht und ist keine rein chemische oder bakteriologische, sondern eine biologische, die Aufschluß geben soll, in welchem Tempo die im Wasser enthaltenen organischen Stoffe durch die vorhandenen oder künstlich eingebrachten Mikroorganismen unter Sauerstoffverbrauch zerlegt werden. Letzterer hängt also auch von der Temperatur des Wassers, sowie von dessen Keimgehalt und Verdünnungsgrad ab. Steriles Wasser zehrt nach Spitta (s. l. c.) Sauerstoff nicht auf.

Organisch stark verunreinigte Wässer sind in der Regel sauerstoffrei. Werden sie mittelst Durchleiten von Luft mit ihm gesättigt, so wird der Sauerstoff so rasch aufgezehrt, daß die Bestimmung der Zehrungsgröße ungenau wird. Durch entsprechende Verdünnung kann aber die Geschwindigkeit des Sauerstoffverbrauches variert werden.

Der Autor studiert die Abwässer des Wiener Hauptsammelkanales und bedient sich zur Verdünnung des sehr keimarmen und mit Sauerstoff für

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

die jeweilige (jährlich wenig schwankende) Temperatur gesättigten Wiener Hochquellenwassers.

Von den angeführten Versuchen seien der Kürze halber einige Tabellen wiedergegeben.

Tabelle I und II lassen erkennen, daß bei einer Verdünnung von 1 : 10 die Sauerstoffzehrung bei 12° C noch rapid verläuft, hingegen bei 1 : 1000 schon sehr langsam, aber doch noch wesentlich rascher, als in reinem Hochquellenwasser.

Tabelle I.

Verdünnung	1 : 1	1 : 9	1 : 100	1 : 1000	1 : 1	1 : 9	1 : 100	1 : 1000
	Sauerstoffgehalt in ccm pro Liter				Größe der Sauerstoffzehrung			
nach 0 Std.	4,14	7,46	8,2	8,27				
„ 2	0,45	6,77			3,69	0,69		
„ 6 „	0,0	4,1	7,35		4,14	3,36	0,85	
„ 24 „	0,0	0,0	6,02	7,60	4,14	7,46	2,18	0,68
nach 4×24 „			3,64	6,66			4,56	1,62

Schmutzwasser aus dem rechten Wiener Hauptsammler. Hochquellenwasser hat 10 bis 11° C und enthält 8,29 ccm Sauerstoff im Liter. Proben im Kühlschrank bei 12° C aufbewahrt.

Tabelle II.

Verdünnung	1 : 30	1 : 100	1 : 300	1 : 1000	1 : 30	1 : 100	1 : 300	1 : 1000
	Sauerstoffgehalt in ccm pro Liter				Größe der Sauerstoffzehrung			
nach 0 Std.	7,99	8,19	8,24	8,26				
„ 6 „	6,85	7,48			1,14	0,71		
„ 24 „	2,65	6,48	7,39	7,94	5,34	2,71	0,87	0,32
„ 48 „	2,7	5,49	7,1	7,58	5,29	2,7	1,16	0,68
„ 4×24 „	0,98	3,98	6,04	7,3	7,01	4,21	2,2	0,96
„ 8×24 „	0,0	2,26	6,04	7,33	7,99	5,93	2,2	0,93
„ 12×24 „			5,42	6,76			2,82	1,5

Probe usw. wie Tab. I. O-Gehalt des Hochquellenwassers 8,27. Reines Hochquellenwasser nach 8 Tagen (Kühlschrank): Sauerstoffgehalt 8,02, Sauerstoffzehrung 0,25.

Tabelle III.

	Spir. W.	Gerb. W.	Sammler W.	Spir. W.	Gerb. W.	Sammler W.
Bei Verdünnung auf 10,0 mg $KMnO_4$-Verbrauch beträgt:						
	Sauerstoffgehalt in ccm pro Liter			Größe der Sauerstoffzehrung		
nach 0 Std.	7,6	7,9	7,7			
„ 24 „	3,28	7,25	4,83	4,32	0,65	2,87
„ 4×24 „	0,57	6,15	1,09	7,03	1,75	6,61
bei 30-facher Verdünnung						
	Sauerstoffgehalt in ccm pro Liter			Größe der Sauerstoffzehrung		
nach 0 Std.	7,84	7,84	7,84			
„ 24 „	5,62	7,26	5,39	2,22	0,58	2,45
„ 4×24 „	4,82	5,73	1,18	3,02	2,11	6,66

Abwässer aus Spiritusbrennerei, Lohgerberei, Wiener Sammler. Kühlschrank. Hochquellenwasser Sauerstoffgehalt 8,1 Temp. 12° C. Sauerstoffgehalt des Hochquellenwassers nach 4×24 Std. 7,79. Sauerstoffzehrung 0,31. Kaliumpermanganatverbrauch in mg pro Liter: Spir. W. 155,2; Gerb. W. 392,0; Sammler W. 233,8.

Tabelle III zeigt die Sauerstoffzehrung verschiedener Abwässer bei Verdünnung mit Hochquellenwasser 1. auf das gleiche Volumen und 2. auf den gleichen Verbrauch an Kaliumpermanganat.

Wurden sterilisierte Abwässer mit Hochquellenwasser verdünnt und dann wechselseitig mit 2 ccm der rohen nativen Abwässer beimpft, so ist, wie Tabelle IV erkennen läßt, die Sauerstoffzehrung bei gleichartigem Impfmaterial aber verschiedenen sterilen und dann verdünnten Abwässern total verschieden. Beziehungen zwischen Sauerstoffzehrung und Keimgehalt (auf Gelatine) usw. scheinen nur für den Glühverlust zu bestehen.

Tabelle IV.

	Keimgehalt pro cc.		mg	pro Liter		
	sofort	2 Tage bei Zimmertemp.	$K_2 Mn_2 O_8$ Verbrauch	Trockenrückstand	Glührückstand	Glühverlust
Spir. W.	18 000 000	20 500 000	232,0	1028,8	815,2	213,6
Gerb. W.	1 600 000	60 800 000	4750,0	1172,8	714,0	458,8
Sammler W.	12 400 000	70 400 000	2197,3	2644,0	2085,2	558,8

Abwässerproben wie Tab. III, werden bei Zimmertemp. gehalten.

	Sterile Abwässer 30fach verdünnt mit Hochquellwasser	Beimpfung der sterilen und verdünnten Wässer mit 2 ccm Wasser von					
		Spir.	Gerb.	Samml.	Spir.	Gerb.	Sammler
		Sauerstoffgehalt			Sauerstoffzehrung		
nach 0 Std.		7,74	7,74	7,74			
„ 24 „	Spir. W.	5,8	5,83	3,03	1,94	1,91	4,71
	Gerb. W.	5,58	5,58	2,45	2,16	2,16	5,29
	Samml. W.	1,83	2,05	0,01	5,91	5,69	7,73
„ 4×24 „	Spir. W.	3,46	3,34	0,12	4,38	4,40	7,62
	Gerb. W.	3,27	3,34	0,08	4,47	4,40	7,66
	Samml. W.	0,03	1,05	0,0	7,71	6,69	7,74

Hochquellenwasser 8,01 ccm Sauerstoff pro Liter, 12° C; Sauerstoffzehrung nach 4× 24 Stunden 1,07 ccm. Die sterilen Abwässer (wie Tab. III) mit Hochquellenwasser 30-fach verdünnt und mit 2 ccm rohe native Abwässer wechselseitig beimpft.

Ausgefaulte, also geruchlose Abwässer, zehren wenig Sauerstoff; ihr Permanganatverbrauch ist jedoch relativ wenig gesunken. Daß die leistungsfähigen (bez. Sauerstoffzehrung) Keime nicht zugrunde gegangen waren, erwiesen Beimpfungen von sterilem Rohwasser. Es müssen daher die zersetzten, die Sauerstoffzehrung bedingenden organischen Substanzen andere sein als die durch Permanganat angezeigten. Die biologisch gereinigten Abwässer aus der Kläranlage der Stadt Baden bei Wien erwiesen sich als zurückgegangen bez. ihrer Sauerstoffzehrung; auch ihre Keime waren in dieser Hinsicht untüchtiger als die der Rohwässer. Ihre geringere Zahl kann den Unterschied in der Sauerstoffzehrung nicht bedingen, denn dieser war in den bloß mit Hochquellenwasser (also mit viel kleinerer Keimzahl) beschickten Proben wenig schwächer. Tabelle V gibt diesbezügliche Daten.

Tabelle V.

Wasser	Keimzahl	$KMnO_4$-verbrauch	Trocken-rückstand	Glüh-rückstand	Glüh-verlust
Rohwasser	7 280 000	378,2	1316,8	562,0	754,8
Faulkammerw.	2 880 000	117,9	786,7	193,3	593,4
Gereinigtes W.	2 080 000	48,9	684,4	130,8	555,6

Hochquellenwasser: Temp. 9° C. Sauerstoffgehalt 8,62 ccm.

	Zusatz von nativem Abwasser							
	in ccm	Rohw.	Reinw.	O[1])		Rohw.	Reinw.	O[1])
Wasserprobe sterilisiert		Sauerstoffgeh. in ccm pr. L.			nach	Sauerstoffzehrung		
30-fach verdünnt		8,33	8,33	8,33	0 Std.			
Rohwasser	1,0	3,55	6,27	7,7	24 „	7,8	2,06	0,63
Faulwasser	1,0	6,12	7,28	—	24 „	2,21	1,05	—
gereinigtes Wasser	1,0	7,45	8,0	7,96	24 „	0,88	0,33	0,37
Hochquellenwasser	0,1	8,5	—	—	24 „	0,12	—	—
„	1,0	7,85	8,09	8,21	24 „	0,77	0,53	0,41
Rohwasser	1,0	0,22	0,6	0,85	4×24 „	8,11	7,73	7.48
Faulwasser	1,0	3,93	5,36	—	4×24 „	4,40	2,97	—
gereinigtes Wasser	1,0	6,12	7,02	7,56	4×24 „	2,21	1,31	0,77
Hochquellenwasser	0,1	7,68	—	—	4×24 „	0,94	—	—
„	1,0	7,36	7,59	7,97	4×24 „	1,26	1,03	0,65

Wurde die Sauerstoffzehrung der an salpetriger Säure reichen, biologisch gereinigten Abwässer von Strebersdorf bei Wien zu bestimmen versucht, so waren die Erfahrungen ungünstig. Auch die modifizierte Winklersche Methode versagte. Diese Schwierigkeit soll durch weitere Versuche behoben werden. Leopold Meyer (Wien).

Neue Literatur,

zusammengestellt von

Prof. Dr. Otto Hamann,

Oberbibliothekar der Kgl. Bibliothek in Berlin.

Allgemeines, Lehrbücher usw.

Lipman, J. G., Bacteria in relation to country life. (New York 1908. 486 p. 8°. M. Fig.).

Untersuchungsmethoden, Instrumente usw.

Fehrs, L., Ein neues Färbegestell zum Färben und Abspülen von Objektträgerausstrichpräparaten. (Dtsche. med. Wchnschr. Jg. 35. No. 33. p. 1439. 1 Fig.)

North, Charles E., An agar gelatin medium. (Journ. of the med. research. Vol. 20. 1909. No. 3. p. 359—363.)

Proca, G., Sur une coloration différentielle des bactéries mortes. (Compt. rend. Soc. biol. T. 67. 1909. No. 25. p. 148—149.)

Proca, G., et **Danila, P.**, Sur une coloration des spores tuées. (Compt. rend. Soc. biol. T. 67. 1909. No. 27. p. 307—309).

---

[1]) Nach dem Verdünnen der sterilen Abwässer mit Hochquellenwasser erfolgte kein weiterer Zusatz.

Systematik, Morphologie.

Eisenberg, Philipp, Weitere Untersuchungen über Fetteinschlüsse bei Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.-Bd. 51. 1909. Heft 2. p. 115—121.)

Grove, A. J., The anatomy of Sophonophora rosarum Walk., the „Greenfly" pest of the rose-tree. (Parasitology. Vol. 2. 1909. No. 1/2. p. 1—28. 1 Taf. u. 15 Fig.)

Guilliermond, A., Observations sur la cytologie d'un bacille. (Compt. rend. Soc. biol. T. 67. 1909. No. 25. p. 102—103. 7 Fig.)

v. Höhnel, Franz, Fragmente zur Mykologie. (6. Mitt. No. 182—288), gleichzeitig 2. Mitt. üb. d. Ergebnisse d. 1907—1908 ausgef. Forschungsreise nach Java. (Wien. Hölder. 1909. 178 p. 1 Taf. u. 35 Fig. 8°. Sitzungsber. d. K. Akad. Wien.)

Huß, Zur Charakteristik einer neuen aus sterilisierter Dosenmilch isolierten Bakterie, Plectridium novum. (Arb. d. Versuchsstat. f. Molkereiwesen in Kiel. Heft 7. 1909.)

Lister, A., Guide to British Mycetozoa exhibited in the Department of Botany. (British Museum. London 1909. 8°.)

Mencl, Em., Die Bakterienkerne und die „cloisons transversales" Guilliermonds. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. 16. 1909. Heft 1. p. 62—70.)

Meylan, Ch., Contributions à la connaisance des Myxomycètes du Jura. (Bull. Soc. Vand. Sc. Nat. 44. 1908. p. 285—303.)

Raybaud, L., Des formes tératologiques provoquées par l'osmose chez les mucorinées. (Compt. rend. Soc. biol. T. 66. 1909. No. 23. p. 1118—1119.)

—, Des formes tératologiques provoquées par la transpiration chez les mucorinées. (Compt. rend. Soc. biol. T. 66. 1909. No. 23. p. 1119—1121.)

Sauerbeck, Ernst, Kapselbildung und Infektiosität der Bakterien. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 63. 1909. Heft 2. p. 313—318.)

Torrend, C., Les myxomycètes. Etude des expèces connues jusqu' ici. (Broteria. 7. 1908. p. 5—177.)

—, Flore générale des Myxomycètes. (Lisbonne 1909. 9 Taf u. Fig. 270 p. 8°. 10 ℳ)

—, Sur une nouvelle espèce de Myxomycète: Arcyria annulifera Lister u. Torrend. (Bull. de la Soc. Portugaise des Sc. nat. Vol. 2. Fasc. 3. p. 212—213.)

Biologie.

Alfieri, Francesco, Intorno alla genesi della Anguillula intestinalis della rana. (Giorn. Accad. med. Torino. Anno 71. 1908. No. 9/10. p. 265—267.)

Ambroz, Adolf, Entwickelungszyklus des Bacillus nitri sp. n., als Beitrag zur Cytologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. Heft 3. p. 193—226. 2 Taf.)

Bertrand, C. und **Ducháček, Fr.,** Über die Einwirkung des Bacillus bulgaricus auf verschiedene Zuckerarten. (Biochem. Ztschr. Bd. 20. 1909. Heft 1/2. p. 100—113.)

Billiet, P., Un champignon destructeur des planchers, boiseries et bois de charpente (Merulius lacrymans Fries.). (Compt. rend. assoc. franc. pour l'avanc. d. sc. Clermont-Ferrand. p. 553—557. 1908.)

Blanchetière, A., et **Gougerot,** Sur la composition chimique du Sporotrichum Beurmanni, ses endotoxines. (Compt. rend. Soc. biol. T. 67. 1909. No. 26. p. 159—161.)

Colas, A., Action des métaux colloidaux électriques sur l'Aspergillus fumigatus. (Compt. rend. Soc. biol. T. 67. 1909. No. 28. p. 374—375.)

Goslings, N., Onderzoekingen betreffende nitro-bacterine. (Cultura 1908. No. 11.)

Huß, Morphologische Studien über zwei Aroma bildende Bakterien, B. esterificans Maassen und Pseudomonas trifolii. (Arb. d. Versuchsstat. f. Molkereiwesen in Kiel. Heft 7. 1909.)

—, Beitrag zur Kenntnis der Erdbeergeruch erzeugenden Bakterien, Beschreibung von Pseudomonas fragaroidea n. sp. (Arb. d. Versuchsstat. f. Molkereiwesen in Kiel. Heft 7. 1909.)

—, Eine fettspaltende Bakterie (Bactridium lipoliticum n. sp.) (Arb. d. Versuchsstat. f. Molkereiwesen in Kiel. Heft 7. 1909.)

Keyes, Frederick, G. The gas production of bacillus coli. (Journ. of med. research. Vol. 21. 1909. No. 1. p. 69—82. 2 Fig.)

v. Lebedew, A., Versuche zur Aufklärung des zellenfreien Gärungsprozesses mit Hilfe des Ultrafilters. (Biochem. Ztschr. Bd. 20. 1909. Heft 112. p. 114—125.)

Martinand, V., Les levures cultivées dans la vinification de la vendange. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. T. 32. No. 817. p. 174—178.)

— Les levures cultivées dans la vinification de la vendange. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. No. 818 p. 206—210.)

Stokvis, C. S., Protozoën und Selbstreinigung. (Arch. f. Hyg. Bd. 71. 1909. Heft 1. p. 46—59.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft, Wasser, Boden.

Bezault, E., Du rôle de la fosse septique dans l'épuration biologique. (Compt. rend. Assoc. franc. pour l'avanc. d. sc. Clermont-Ferrand 1908. — Paris 1909. p. 1286—1302. 1 Fig.)

Calmette, A., et **Rolants, E.,** Rôle de la fosse septique (septic tank) dans l'épuration biologique des eaux potables. (Compt. rend. Assoc. franc. pour l'avanc. d. sc. Clermont-Ferrand 1908. — Paris 1909. p. 1279—1286.)

Daske, O., Die Reinigung des Trinkwassers durch Ozon. (Dtsche. Vierteljahrsschr. f. öff. Gesundheitspflege. Bd. 41. 1909. Heft 3. p. 385—431. 9 Fig.)

Hahn, Martin, Die Bestimmung und meteorologische Verwertung der Keimzahl in den höheren Luftschichten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 51. 1909. Heft 2. p. 97—114.)

Lauterborn, R., Bericht über die Ergebnisse der 5. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Basel—Mainz (vom 4.—16. 7. 1907). (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte. Bd. 30. 1909. Heft 3. p. 523—542.)

Marsson, M., Bericht über die Ergebnisse der 5. biologischen Untersuchung des Rheines auf der Strecke Mainz bis Koblenz (vom 9.—16. 7. 1907). (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte. Bd. 30. 1909. Heft 3. p. 543—574.)

Spitta und **Pleißner,** Neue Hilfsmittel für die hygienische Beurteilung und Kontrolle von Wässern. (Arb. a. d. K. Gesundheitsamte. Bd. 30. 1909. Heft 3. p. 463—482.)

Valence, Filtre et eau distillée. (Arch. de méd. navale. T. 92. 1909. N. W. p. 300—312.)

Milch, Molkerei.

Burri, R., und **Thöni, J.,** Über Eigenschaften und Bedeutung der bei der Emmenthaler Käsefabrikation gelegentlich auftretenden schleimbildenden Milchsäurebakterien. (Schluß). (Molkerei-Ztg. Berlin. Jg. 19. 1909. No. 33. p. 386—387.)

Fettick, Quantitative und qualitative Untersuchungen über die Bakterien, Hefen und Pilze der Butter und über den Einfluß des Kochsalzes auf dieselben. Welcher Kochsalzgehalt ist für Dauer- oder Exportbutter zulässig? (Arb. d. Versuchsstat. f. Molkereiwesen. Heft 7. 1909.)

Huß, Eine durch einen Micrococcus (M. chromoflavus) hervorgerufene Gelbbraunfärbung von Hartkäse. (Arb. d. Versuchsstat. Molkereiwesen in Kiel. Heft 7. 1909.)

Slator, Arthur, The factors which influence the role of alcoholic fermentation. (Rep. 98. Meeting Brit. assoc. Dublin. 1908. p. 674—675.)

Weigmann, Gruber und **Huß,** Über armenisches Mazun. (Arb. d. Versuchsstat. f. Molkereiwesen. Heft 7. 1909.)

Weigmann, Huß und **Wolff,** Einige bakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis. (Arb. d. Versuchsstat. f. Molkereiwesen in Kiel. Heft 7. 1909.)

Wolff, A., Nachtrag zu der Frage; Welche Mikroorganismen beteiligen sich an der Bildung des rotgelben Farbstoffes auf der Oberfläche der Käse im Reifungskeller? (Milchwirtschaftl. Zentralbl. Jg. 5. 1909. Heft 9. p. 414—416.)

Wein, Weinbereitung.

Pacottet, P., Le coup de pouce (Rev. de viticult. Année 16. 1909. No. 813. p. 57—60. 5 Fig.)

—, L'acide sulfureux liquide en vinification. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. No. 821. p. 281—287. 2 Fig.)

Über Most- und Weinschonungen und Filtrationen, Allg. Wein-Ztg. (Jg. 26. 1909. No. 32. p. 324—326.)

Bier, Bereitung.

Graf, G., Von der Großgärung. (Allg. Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikat. Jg. 37. 1909. No. 37. p. 440—443.)

Schönfeld, F. und **Rommel, W.,** Über die Wirkung verschiedener Pasteurisationstemperaturen auf obergärige, durch Milchsäurebakterien infizierte Biere. (Wchnschr. f. Brauerei. Jg. 26. 1909. No. 33. p. 397—400.)

Abfallstoffe, Desinfektionen usw.

Bassange, R., Über die desinfizierende Wirkung einiger gebräuchlicher Zahn- und Mundwässer auf pathogene Bakterien. (Dtsche. med. Wchnschr. Jg. 35. 1909. No. 33. p. 1436—1437.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten-Pflanzenschutz.

Delacroix, G., et **Maublanc, A.,** Maladies des plantes cultivées. 2. Maladies parasitaires. (Paris, Baillière. 1909. 452 p. 83 Taf. 8⁰.)

Dennler, J., Die Wachsmotten. Beschreibung und Lebensweise, Schaden, den sie in den Bienenstöcken verursachen, und Mittel, die mit Erfolg gegen sie anzuwenden sind. (Leipzig, Fest. 1909. 22 p. M Fig. — 50 ℳ)

Felt, E. P., Gall midges of the golden rot. (Ottava Natural. Vol. 22. 1909. p. 244—249.)

Gillot, Le blanc du chêne. (Rev. Sc. Limousin. 17. 1909. p. 1—4.)

Großenbacher, J. G., A Myxosphaerella wilt of melons. (New York agr. Exp. Stat. techn. Bull. No. 9. 1909. p. 196—229.)

Gryon, H., Black spot disease of the Grope vine and its treatment. (Queensland agr. Journ. 20. 1908. p. 311—313.)

Heald, F. D., and **Pool, V. W.,** The mould of maple syrup. (Ann. Rep. Nebraska Agr. Exp. stat. 21. 1908. p. 54—68.)

Issatschenko, B., Zur Frage über die Bedingungen der Infektion von Pflanzen durch Pilze. (Bolezn. Raskn. 2. 1908. p. 9—12. Russ. m. deutsch. Inhaltsangabe.)

Kirk, T. W., Diseases of garden plants and diseases of fruit trees and potatoes. (Ann. Rep. New. Zeal. Dept. Agr. 1908. p. 109—117.)

Kölpin, Ravn F., Kaalbroksvampen. Plasmodiophora brassicae Woron. (Tidsskr. Landbd. Planteavl. 15. 1908. p. 525—620.)

Krüger, Untersuchung über die Ursachen und Bekämpfung der Herzfäule der Zuckerrüben. (Ztschr. d. Ver. d. Dtschn. Zucker-Ind. Lief. 643. 1909. p. 709—716.)

Lind, G., Jaktagelser vörende den amerikaniska krusbärsmjölldaggen 1906—1908. (Medd. Kgl. Landtb. Ak. Exp. 1909. 19 p.)

Loche, G., Le Phylloxera en Champagne. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. No. 820. p. 267—268.)

Maisonneuve, P., **Moreau, L.,** et **Vinet, E.,** La cochylis. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. No. 820. p. 253—258. 2 Fig.)

—, —, —, La cochylis. 3. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. No. 821. p. 291—294. 53 Fig.)

Mariani, G., Nuovo contributo alla cecidologia italica. (Marcellia. 7. 1908. p. 110—115.)

Massalongo, C., Nuove osservazioni fitologiche. (Madonna Verona 3. 1909. p. 3—23.)

Massee, A Funtumia disease, Nectria funtumiae May. (Bull. Misc. Inform. R. bot. Garden Kew 1909. p. 147—148.)

Massee, G., Plant diseases 9. (Bull. Misc. Inform. R. bot. Garden Kew 1909. p. 16—18.)

—, Economic mycology. (Naturalist 1909. p. 28—29.)

Miyake, J., Studies on the parasitic fungi of rice in Japan. (Bot. Mag. Tokyo. 23. 1909. p. 85—98.)

Pammel, L. H., Fungus diseases during the season of 1908. (Jowa Hortic. 1. 1908. p. 376—382.)

Potter, M. C., Observations on a disease producing the „Deal Ear" of the barley. (Proc. Univ. Durham philos. Soc. 3. 1909. p. 27—33.)

Putscher, Betrachtungen über die gegenwärtige Nonnenkalamität in Sachsen. Vortrag. (Tharandt. 1909. 35 p. 8⁰. — 50 ℳ. Aus: Ber. d. Sächs. Forstvereins f. 1909.)

23 d Report of the State Entomologist on injurions and otter insects of the State of New York 1907. (Education Depart. Bull. No. 433. 1908. 541 p. M. 44 Taf.)

Rorer, J. B., A bacterial disease of the peach. (Mycologia. 1. 1909. p. 23—27.)

Salem, V., Nuove galle dell' erbario del R. orto bot. di Palermo. (Marcellia 7. 1908. p. 105—109.)

Schwangart, Grundlagen einer Bekämpfung des Traubenwicklers auf natürlichem Wege. (Mitt. d. Dtschn. Weinbau-Ver. Jg. 4. 1909. No. 9. p. 311—331.)

Sheldon, J. L., Notes on Uromyces. (Torreya 9. 1909. p. 54—56.)

Stockdale, F. A., Root disease of sugar cane. (West Ind. Bull. 9. 1908. p. 103—116.)

—, Fungus disease of cacao and sanitation of cacao orchards. (West Ind. Bull. 9. 1908. p. 166—189.)

The causes of the Wartlike protuberances on Holly Leaves. (Selborne Mag. Nat Notes. 20. 1909. p. 41.)

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

Capus, J., et **Feytaud, J.,** Les traitements insecticides contre les cheuilles filenses des arbres fruitiers. (Rev. de viticult. Année 16. 1909. No. 820. p. 258—261.)

Hiltner, L., Pflanzenschutz nach Monaten geordnet. Eine Anleitung für Landwirte, Gärtner . . . (Stuttgart, Ulmer 1909. 7. 433 p. 138 Fig. 8⁰. 4,50 ℳ.)

Im Kampfe gegen den Heu- und Sauerwurm. (Weinbau u. Weinhandel. Jg. 27. 1909. No. 37. p. 359—360).

Inhalt.

Hastings, E. G., and **Hoffmann, Conrad,** Bacterial content of the milk of individual animals, p. 465.

Severin, S. A., Über die Bakterienflora einiger Bodenportionen aus dem fernen Norden (Obdorsk und Halbinsel Jamal), p. 470.

Severin, S. A., Zur Frage der Zersetzung von salpetersauren Salzen durch Bakterien, p. 479.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Schweizerische milchwirtschaftliche und bakteriologische Anstalt Bern-Liebefeld.

Burri, R. und **Kürsteiner, J.,** Untersuchungen über die Beteiligung obligat anaërober sporenbildender Fäulnisbakterien an der normalen Reifung des Emmentalerkäses, p. 492.

Referate.

Bach, A., Über den Stickstoffgehalt der Oxydationsfermente, p. 499.

Bayer, Em., Die Zoocecidien der Insel Bornholm, p. 539.

Bokorny, Th., Weitere Mitteilung über die CO_2-Assimilation und Ernährung von Pflanzen mit Formaldehyd, p. 508.

Börner, Zur Biologie und Verwandlung des Birnsaugers, p. 535.

Brick, Einige Krankheiten und Schädigungen tropischer Kulturpflanzen, p. 522.

Br., R., Emploi des engrais dans la culture du Caféier, p. 504.

—, La fumure du Cocotier aux Philippines et aux Seychelles, p. 504.

—, Traitement de la „Root disease“ de la Canne à sucre, p. 504.

Brizi, V., Terzo contributo allo studio del Brusone del riso, p. 529.

Bubák, Franz, Zwei neue Uredineen, p. 525.

—, Eine neue Tilletia-Art, p. 526.

Burnat, J. et **Jaccard, P.,** L'acariose de la vigne, p. 531.

Dachnowski, Alfred, Bog toxins and their effect upon soils, p. 507.

Dale, E., On the morphology and cytology of Aspergillus repens De Bary, p. 513.

Delacroix, G., Maladies des plantes cultivées. I. Maladies non parasitaires, p. 518.

Delacroix, G., et **Maublanc, A.,** Maladies des plantes cultivées. II. Maladies parasitaires, p. 519.

Diedicke, H., Über Rostpilze der Flora von Jena, p. 524.

Dietel, Paul, Beschreibungen einiger neuer Uredineen. II., p. 525.

Döring, Anormale Blütenstände von Zea Mais und Pelorien von Linaria vulgaris, p. 542.

Dox, A. W., Proteolytic changes in the ripening of Camembert cheese, p. 501.

Eriksson, J., Neue Studien über die Spezialisierung der grasbewohnenden Kronenrostarten, p. 524.

Falck, Über den Nachweis des echten Hausschwammes, p. 527.

Ferdinandsen, C. and **Winge, O.,** A couple of new Fungi collected by F. Børgesen in the Danish West Indies, p. 512.

Ferraris, T., Osservazioni preliminari intorno al marciume violetto dell' olmo, p. 530.

—, Seccume ed annerimento delle foglie del fagiolo nano prodotto da Alternaria Brassicae, p. 529.

Fischer, E., Contributions à l'étude des espèces biologiques, p. 525.

Foà, Anna, Intorno al ciclo evolutivo della fillossera del cerro, p. 532.

Foëx, E., Rouilles de céréales, p. 528.

Francolini, F., L'azione nociva della calciocianamide su l'olivo, p. 509.

Fred, E. B., Assimilation of nitrogen by different strains of Bacillus radicicola in the absence of the host plant, p. 515.

—, Results obtained from inoculating soy beans with artificial cultures, p. 506.

Fuschini, C., Contributo a lo studio della Phylloxera Quercus, p. 532.

—, La diffusione di una nuova crittogama in Italia. Il „mal bianco“ della Quercia, p. 530.

Gard, L'Oidium du chêne pendant l'été et l'automne de 1908 dans le Sud-Ouest de la France, p. 530.

Giesenhagen, Über zwei Tiergallen an Farnen, p. 540.

Graebner, P., Beiträge zur Kenntnis nichtparasitärer Pflanzenkrankheiten an forstlichen Gewächsen. 3. Wirkung von Frösten während der Vegetationsperiode, p. 523.

Grandori, R., Ulteriori ricerche su la fillossera gallicola, p. 533.

Grassi, B., e **Grandóri, R.**, Ulteriori ricerche su la fillossera della vite, p. 533.

Grassi, B., e **Foà, Anna**, Ulteriori ricerche su la fillossera della vite, p. 533.

—, Ulteriori ricerche su le fillossere della vite fino al 1. Dec. 1908, p. 534.

Grevillius, A. Y., Ein Thysanopterocecidium auf Vicia cracca. L., p. 539.

Griffon et **Maublanc**, Le blanc du chêne, p. 531.

Gruenberg, B. C., Some aspects of the mycorrhiza problem, p. 516.

Hauman-Merck, L., et **Devoto, J. A.**, Enfermedades de las plantas cultivadas, observadas en los alrededores de la Capital Federal en los annos 1906—1908, p. 520.

Heinze, Berthold, Über die aus der Luft gewonnenen künstlichen Stickstoff-Düngemittel, Kalkstickstoff, Stickstoffkalk und Kalksalpeter und deren Bedeutung für die praktische Landwirtschaft, p. 502.

—, Über die Verrottung des Stalldüngers, p. 503.

Hennings, P., Fungi paraënses. III, p. 511.

Herter, Guillermo, Hongos coleccionados en la República Oriental del Uruguay, p. 511.

Höft, Kann man aus dem chemischen Nachweis von Eisen in der Butter auf eine Qualitätsverminderung der Butter durch das Eisen schließen? p. 500.

Höhnel, Franz von, Fragmente zur Mykologie, p. 510.

Jaap, Otto, Coccidien-Sammlung. Serie I. No. 1—12. p. 535.

—, Drittes Verzeichnis zu meinem Exsiccatenwerk „Fungi selecti exsic cati“, Serien IX—XII (Nummern 201 bis 300), nebst Beschreibungen neuer Arten und Bemerkungen, p. 510.

Keißler, K. von, Monströse Wuchsformen von Polyporus Rostkovii Fr., p. 542.

—, Neue Pilze von den Samoa- und Salomons-Inseln, p. 512.

Kelhofer, W., Prüfung von Lactocolle, eines zur Schönung des Weines empfohlenen Kaseïnpräparates, p. 499.

Kleine, R., Die europäischen Borkenkäfer und ihre Nahrungspflanzen in statistisch-biologischer Beleuchtung, p. 538.

Koch, Rudolf, Das Larvenleben des Riesenbastkäfers, Hylesinus (Dendroctonus) micans Kug, p. 536.

Köck, G., Bakterien als Pflanzenschädlinge, p. 521.

—, Über drei kryptogamische Erreger beachtenswerter Pflanzen-Krankheiten. (Pseudoperonospora cubensis, Sphaerotheca Mors uvae und Fusarium sp., p. 519.

Laurent, Emile, La Bactérie de la fermentation panaire, p. 502.

Laurent, Emile, Les microbes du sol, p. 505.

—, Recherches sur les nodosités radicales des Légumineuses, p. 506.

—, Sur la prétendue origine bactérienne de la diastase, p. 499.

—, Sur le microbe des nodosités des Légumineuses, p. 505.

Lemon, A. H., A new ordinance to prevent the introduction of pest into the colony, p. 518.

Leonardi, G., Esperienze contro la mosca dell' olivo, p. 539.

Lindau, G., Paul Hennings †, p. 498.

Magnus, P., Eine neue Ramularia aus Südtirol nebst Bemerkungen über das häufige Auftreten solcher Konidienformen in gebirgigen Gegenden, p. 527.

Maire, R., et **Tison, A.**, La cytologie des Plasmodiophoracées et la classe des Phytomyxinae, p. 513.

Marchal, P., Le borer géant de la canne à sucre, p. 538.

Martin, C. E., Observations mycologiques hibernales, p. 510.

Mattei, V., Azione nociva della caldiocianamide sul mandorlo, p. 509.

McNeil, J. H. (J. M. ex err.) and **Pammel, L. H.**, The danger from feeding hay that containts Ergot, p. 529.

Migliorato, Ermino, Contribuzioni della teratologia vegetale. V. Epiascidii apicali fogliari di Smilax aspera L. — VI. Anomalie fiorali dei frutti di varie specie d'Eucalyptus, p. 542.

Moncure, W. A. P., and **Ellett, W. B.**, The domination of fermentation by the use of selected yeasts, p. 500.

Montemartini, L., La screpolatura del granturco, p. 528.

Murrill, W. A., Collecting fungi in Jamaica, p. 512.

Noelli, A., Nuove osservazioni su la Peronospora effusa (Grev.) Rab., p. 530.

Pantanelli, E., Ricerche fisiologiche su le viti americane oppresse da galle fillosseriche, p. 534.

Pantel, J., et **de Sinety, R.**, Sur l'apparition de mâles et d'hermaphrodites dans les pontes parthénogénétiques de Phasmes, p. 532.

Peck, Ch. H., New species of fungi, p. 510.

Peklo, Jaroslav, Beiträge zur Lösung des Mykorrhizaproblems, p. 517.

—. Die epiphytischen Mykorrhizen nach neuen Untersuchungen. I. Monotropa, Hypopitys L., p. 517.

Price and **Stokes**, The pollution of streams by distillery waste, p. 499.

Saccardo, P. A., L'oidio della quercia, p. 531.

Schikorra, Walter, Über die Entwickelungsgeschichte von Monascus, p. 514.

Schreiner, O., and **Reed, H. S.**, The role of oxydation in soil fertility, p. 506.

Soave, M., Intorno al meccanismo dell' impiego del gesso in agricultura, p. 505.
Stichel, Roland, Merodon equestris F. (Dipt.) als Schädling im Warmhaus, p. 535.
Sydow, H. et **P.,** Micromycetes japonici, p. 511.
Thöni, J., Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora von nach Emmentalerart bereiteten Käsen in verschiedenen Reifungsstadien, p. 501.
Ulrich, P., Der Kleckrebs, p. 530.
Vestergren, T., Aecidium alascanum Trel. und Aecidium Orchidacearum Desm. p. 526.
Zach, F., Über den in den Wurzelknöllchen von Elaeagnus angustifolia und Alnus glutinosa lebenden Fadenpilz, p. 515.

Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Appel, Ergebnisse eines Versuches zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes, p. 545.
Bokorny, Th., Formaldehyd und Hefe, p. 542.
Chuard, E., La lutte contre le Mildiou. Emploi d'oxychlorure de cuivre, p. 545.
Faes, H., Désinfection des plantes de vignes racinés et la propagation du phylloxéra, p. 549.
Fedele, Vinc., Daremo lo zolfo ai boschi? p. 546.
Grassi, B., La lotta contro la fillossera, p. 549.
Henshaw, H. W., Birds useful in the war against the cotton boll weevil, p. 548.
Henshaw, H. W., Value of swallows as insect destroyers, p. 547.
Hesse, Luise, Wie muß man Gemüse sterilisieren? p. 543.
Hiltner und **Lang,** Empfiehlt sich die Verwendung von Kalkstickstoff oder Kupfervitriol zur Hederichbekämpfung? p. 546.
Höft, H., Die Konservierung von Butter und Käse, p. 543.
Hunter, W. D., The most important step in the control of the boll weevil, p. 548.
Keißler, K. von, Über Sclerotinia ecchinophila Rehm, p. 546.
Netopil, J., Fulmek, L., Wahl, B., und **Zimmermann, H.,** Das Karbolineum als Pflanzenschutzmittel, p. 543.
Porchet, Fd., Contribution à l'étude de l'adhérence des produits cupriques, p. 544
Schwartz, Mittel gegen schädliche Insekten, p. 547.
Strube, Züchterische Maßnahmen zur Bekämpfung des Staubbrandes beim Weizen, p. 545.
Szomjas, Gustav von, Von der Vogelwelt verhinderter Raupenfraß, p. 547.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Benecke, W., Die von der Cronesche Nährsalzlösung, p. 550.
Brezina, E., Über die Verwertbarkeit der Sauerstoffzehrung in der Methodik der Wasser- und Abwasseruntersuchung, p. 551.

Neue Literatur, p. 554.

Die Herren Mitarbeiter werden höflichst gebeten, bereits fertiggestellte Klichees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Redaktion, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.

Abgeschlossen am 4. Dezember 1909.

Centralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 25. No. 26.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 25 enthaltenen Arbeiten.

Abderhalden, Emil, Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden Berlin und Wien 1909. 377
Abel, R. und **Ficker, M.,** Einfache Hilfsmittel zur Ausführung bakteriologischer Untersuchungen. 380
Allemann, O. s. **Thöni, J.**
Altmann, Nonneninvasion und Ausbruch der Wipfelkrankheit. 373
Anonymus, A Coconut Palm root disease. 351
—, Coconut stem bleeding disease. 352
—, Fungus inside a bamboo. 353
—, Treatment of fungus diseases. 389
—, Una opinion sobre la mancha negra del café. 360
Apelt, Über stickstoffassimilierende Mikroorganismen. 321
Appel, O., Anleitung zur Bekämpfung des Getreidebrandes. 392
—, Ergebnisse eines Versuches zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes. 545
— und **Kreitz,** Die Blattrollkrankheit der Kartoffel. 366
— und **Riehm,** Untersuchungen über den Flugbrand des Getreides. 353
— und **Wollenweber,** Studien über Kartoffel-Fusarien. 367
Artari, A., Der Einfluß der Konzentration der Nährlösungen auf das Wachstum einiger Algen und Pilze. 380
Arthur, J. Ch., Die neue Klassifikation der Uredineen und ihre Kritiker. 348
Atkinson, G. F., Observations on Polyporus lucidus Leys, and some of its allies from Europe and North America. 350
Avery, Oswald, T., s. **White, Benjamin.**
B., L., Note sur quelques ennemis du Cocotier et du Théier à Ceylon. 389

Bach, A., Über den Stickstoffgehalt der Oxydationsfermente. 499
Bahr, C. s. **Gordan, P.**
Bainier, G., Mycothèque de l'Ecole de Pharmacie. XXIV, XXV, XXVI, XXVII. 339
—, Mycothèque de l'Ecole de Pharmacie. XXVIII et XXIX. 340
Barber, M. A., The rate of multiplication of Bacillus coli at different temperatures. 281
Barthel, Chr., Bodenbakteriologische Untersuchungen. (Orig.) 108
Baur, Über Fettspaltung mit Pankreas. 284
Bayer, Em., Die Zoocecidien der Insel Bornholm. 539
Beal, F. E. L., Birds of California in relation to the fruit industry. 373
Beardslee, H. C., Three rare Myxomycetes. 343
Bechmann, M., Utilisation agricole des eaux d'egouts. 281
Beijerinck, M. W. und **Minkman, D. C. J.,** Bildung und Verbrauch von Stickoxydul durch Bakterien. (Orig.) 30
Benecke, W., Die von der Cronesche Nährsalzlösung. 550
Berger, E. W., Whitefly studies in 1908. 371
Böck, Friedrich, Über Selbstentzündung. 333
Boehnke, Karl Ernst, Über die Einwirkung einiger sogenannter Präservesalze auf Hackfleisch. 386
Börner, Zur Biologie und Verwandlung des Birnsaugers. 535
Bokorny, Th., Chemische Konservierungsmittel. 383
—, Formaldehyd und Hefe. 542
—, Weitere Mitteilung über die CO_2-Assimilation und Ernährung von Pflanzen mit Formaldehyd. 508
Bottomley, W. B., Über den Einfluß stickstoffbindender Bakterien auf das Wachstum von Pflanzen, welche nicht zu den Leguminosen gehören. (Orig.) 270
Bouska, F. W., The use of starters in buttermaking. 310
Br., R., Emploi des engrais dans la culture du Caféier. 504
—, La fumure du Cocotier aux Philippines et aux Seychelles 504.
—, Traitement de la „Root disease“ de la Canne à sucre. 504
Brasch, Walter, Über den bakteriellen Abbau primärer Eiweißspaltprodukte. 279
Bretschneider, A. s. **Köck, G.**
Brezina, E., Über die Verwertbarkeit der Sauerstoffzehrung in der Methodik der Wasser- und Abwasseruntersuchung. 551
Brick, Einige Krankheiten und Schädigungen tropischer Kulturpflanzen. 522

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Brizi, V., Terzo contributo allo studio del brusone del riso. 529
Brocq-Rousseu et **Gain, Edmond,** Sur la présence de l' amylase dans les vieilles graines. 285
Brown, Percy E. s. **Lipman, Jacob, G.**
Buard, G., Recherche de l'indol dans les cultures microbiennes. 280
Bubák, Fr., Eine neue Tilletia-Art. 526
—, Über die richtige Benennung von Tilletia belgradensis Magnus. 349
—, Zwei neue Uredineen. 525
Buchner, Eduard und **Haehn, Hugo,** Über das Spiel der Enzyme im Hefepreßsaft. 286
— und **Meisenheimer,** Über die Rolle der Milchsäure bei der alkoholischen Gärung des Zuckers. 292
—, und **Wüstenfeld, Hermann,** Über Zitronensäuregärung durch Citromyceten. 302
Buchwald und **Neumann,** Über das Bleichen der Mehle. 332
Burnat, J. et **Jaccard, P.,** L' acariose de la vigne. 531
Burri, R. und **Kürsteiner, J.,** Untersuchungen über die Beteiligung obligat anaërober sporenbildender Fäulnisbakterien an der normalen Reifung des Emmentalerkäses. (Orig.) 492
—, und **Thöni, J.,** Über Eigenschaften und Bedeutung der bei der Emmentalerkäsefabrikation gelegentlich auftretenden schleimbildenden Milchsäurebakterien. 308
Busse, W. und **Ulrich,** Die Herz- und Trockenfäule der Rüben. 368
—, —, Der Wurzelbrand der Rüben. 367
Butkewitsch, Die Kultur des Schimmelpilzes Aspergillus niger, als Mittel zur Bodenuntersuchung. 314

Cappezzuoli, Cesare s. **Neuberg, Carl.**
Chapelle, J., et **Ruby, J.,** La teigne ou chenille mineuse de l'olivier. 360
Chuard, E., La lutte contre le Mildiou. Emploi d'oxychlorure de cuivre. 545
Clifart, Dobell, On the so-called „sexual" method of spore formation in the disporic Bacteria. 278
Cluß, Adolf, Fermentative oder chemische Säuerung in der Brennerei. 302
Cockayne, A. H., Notes on the spread of Phytophthora infestans with special reference to hybernating mycelium. 365
Conn, H. J., Future methods of soil bacteriological investigations. (Orig.) 454

Dachnowski, Alfred, Bog toxins and their effect upon soils. 507
Dale, E., On the morphology and cytology of Aspergillus repens De Bary. 513
Danckwerts, Die landwirtschaftliche Verwertung städtischer Abwässer. 282
Dandeno, J. B., On the toxic action of Bordeaux mixture and of certain solutions on spores of Fungi. 390
Dangeard, P. A., Note sur une zoocécidie rencontrée chez un Ascomycète l'Ascobolus furfuraceus. 375
Delacroix, G., Maladies des plantes cultivées. I. Maladies non parasitaires. 518
— et **Maublanc,** Maladies des plantes cultivées. I. Maladies non parasitaires. — II. Maladies parasitaires. — 341
—, —, Maladies des plantes cultivées. II. Maladies parasitaires. 519
Densch, Über die Genauigkeit bei der Bestimmung verschiedener Stickstoffformen in Bodenauszügen. 381
Devoto, J. A. s. **Hauman-Merck, L.**
Diedicke, H., Über Rostpilze der Flora von Jena. 524
Dietel, Paul, Beschreibungen einiger neuer Uredineen. II. 525
Döring, Anormale Blütenstände von Zea Mais und Pelorien von Linaria vulgaris. 542
Dombrowski, W., Sur l'Endomyces fibuliger. 299
Dox, A. W., Proteolytic changes in the ripening of Camembert cheese. 501
Duchácek, Franz, Einwirkung verschiedener Antiseptica auf die Enzyme des Hefepreßsaftes. 295
Dufour, L., Note sur la classification des Basidiomycètes. 349
Dzierzbicki, Adam, Einige Beobachtungen über den Einfluß der Humusstoffe auf die Entwicklung der Hefe und auf Alkoholgärung. 296

Ehrenberg, Paul, Theoretische Betrachtungen über die Beeinflussung einiger der sog. physikalischen Bodeneigenschaften. 316
Ehrlich, Felix, Über die Entstehung der Bernsteinsäure bei der alkoholischen Gärung. 295
Ellett, W. B. s. **Moncure, W. A. P.**
Ellis, D., A preliminary notice of five new species of iron-bacteria. 311
Eriksson, J., Neue Studien über die Spezialisierung der grasbewohnenden Kronenrostarten. 524
Ernest s. **Stoklasa.**
Ewert, Erstes Auftreten der Septoria Azaleae in Schlesien. 356

Faber, C. F. von s. **Ruhland, W.**
Faber, von, Einiges über die Hemileia-Krankheit der Kaffeepflanze und die Widerstandsfähigkeit verschiedener Kaffeearten gegen dieselbe. 360
Faes, H., Désinfection des plantes de vignes racinés et la propagation du phylloxéra. 549

Faes, H., Progrès du phylloxéra. Le phylloxéra sur feuilles. 364
Falck, Über den Nachweis des echten Hausschwammes. 527
Familler, Jg., Über Störungen im Pflanzenleben. 342
Fedele, Vinc., Daremo lo zolfo ai boschi? 546
Ferdinandsen, C. and **Winge, O.**, A couple of new Fungi collected by F. Borgesen in the Danish West Indies. 512
Ferraris, T., Osservazioni preliminari intorno al marciume violetto dell' olmo. 530
—, Osservazioni sulla morfologia dell Oidio delle Quercie. 358
—. Seccume ed annerimento delle foglie del fagiolo nano prodotto da Alternaria Brassicae. 529
Feytaud, J., Les Chrysomèles de l'osier. 359
—, La destruction de l'Eudémis. Nouvelles recherches de destruction par les liqui des insecticides. 394
Fickendey, Zur Kakaofermentation. 313
Ficker, M. s. **Abel, R.**
—, Über die Bedeutung indifferenter Stoffe bei der Salizylkonservierung. 387
Filter, Akklimatisationsversuche mit Grobseide. 370
Fischer s. **Lemmermann,**
Fischer, E., Contributions à l'étude des espèces biologiques. 525
Fischer, Ed., Der Eichen-Meltau. 358
Fischer, Hugo, Neues aus der Bakteriologie. 273
—, Der gegenwärtige Stand der Bodenbakteriologie. 315
—, Zur Methodik der Bakterienzählung. (Orig.) 457
Fluri, Max, Der Einfluß von Aluminiumsalzen auf das Protoplasma. 276
Foà, Anna s. a. **Grassi, B.**
—, Intorno al ciclo evolutivo della fillossera del cerro. 532
Foëx, E., Rouilles de céréales. 528
Francolini, F., L'azione novica della calciocianamide su l'olivo. 509
Fred, E. B., Assimilation of nitrogen by different strains of Bacillus radicicola in the absence of the host plant. 505
—, Results obtained from inoculating soy beans with artificial cultures. 506
Fuhrmann, Franz, Die Geißeln von Spirillum volutans. (Orig.) 129
Fulmek, L. s. **Netopil, J.**
Fulmek, L., Gossyparia ulmi L. auf Viscum album L. (Orig.) 106
Fuschini, C., Contributo a lo studio della Phylloxera Quercus. 532
—, La diffusione di una nuova crittogama in Italia. II „mal bianco" della Quercia. 530

Gain, Edmond, s. **Brocq-Rousseu.**
Gallagher, W. J., Plant life and disease. 339
—, A root disease of Para (Hevea brasiliensis) rubber trees. 363
Gard, M., Note sur un Oidium attaquant les feuilles de Chêne. 357
—, L'Oidium du chêne pendant l'été et l'automne de 1908 dans le Sud-Ouest de la France. 530
Géza s. **Zemplén.**
Giesenhagen, Über zwei Tiergallen an Farnen. 540
Gordan, P. und **Bahr, C.**, Bakterienkunde für landwirtschaftliche und Molkereilehranstalten, wie für die landwirtschaftliche Praxis. 273
Graebner, P., Beiträge zur Kenntnis nichtparasitärer Pflanzenkrankheiten an forstlichen Gewächsen. 3. Wirkung von Frösten während der Vegetationsperiode. 523
Grandóri, R. s. **Grassi, B.**
—, Ulteriori ricerche su la fillossera gallicola. 533
Grassi, B., La lotta contro la fillossera. 549
—, e **Foà, Anna**, Ulteriori ricerche su la fillossera della vite. 533
—, —, Ulteriori ricerche su le fillossere della vite fino al 1. Dez. 1908. 534
—, e **Grandóri, R.**, Ulteriori ricerche su la fillossera della vite. 533
Gray, C. E. s. **Rogers, L. A.**
Grazia, S. de, Influenza dell' umidita del suolo sul' azione concimante della calciocianamide. 317
Grevillius, A. Y., Ein Thysanopterocecidium auf Vicia cracca L. 539
Griffon et **Maublanc**, Le blanc du chêne. 531
Grosser, Der Kartoffelkrebs. 367
Gruenberg, B. C., Some aspects of the mycorrhiza problem. 516
Guéguen, F., Etude sur l'album Pelletier de Guernisac. 341
Guéguen, F., Observations diverses sur le Lepiota lutea (Bolt.) Quél. et description du Lepiota Boudieri n. sp. 350
Guilliermond, A., Contribution à l'étude cytologique des Endomyces: Saccharomycopsis capsularis et Endomyces fibuliger. 298
—, Sur la repoduction sexuelle de l'Endomyces Magnusii Ludwig. 301
Guiraud et **Maudoul, H.**, A propos de la signification du Bacillus coli dans les eaux potables. 280
Gutzeit, Ernst, Die Bakterien im Kreislaufe des Stoffes in der Natur und im Haushalte des Menschen. 273

Haehn, Hugo s. **Buchner, Eduard.**
Hall, J. G. s. **Stevens, F. L.**
Hammer, B. s. **Hastings, E. G.**
Harding, H. A., and **Prucha, M. J.**, The bacterial flora of cheddar cheese. 307
Hastings, E. G. and **Hammer, B. W.**, The Occurrence and Distribution of Organisms similar to the B. Bulgaricus of Yogurt. (Orig.) 419

Hastings, E. G. and **Hoffmann, Conrad,** Bacterial content of the milk of individual animals. (Orig.) 465
Hauch, L. A., Die Wirkung des Spätfrostes in jungen Buchenwaldungen. 377
Hauman-Merck, L. et **Devoto, J. A.,** Enfermedades de la plantas cultivadas, observadas en los alrededores de la Capital Federal en los annos 1906—1908. 520
Hayduck, F., Über einen Hefengiftstoff in Hefe. 292
—, Zur Mechanik und Dynamik der Hefe. 297
Heald, F. D., Seed treatment for the smuts of winter barley. 392
Hedin, Über Hemmung der Labwirkung. . 312
Heinemann, Lactic acid as an agent to reduce intestinal putrefaction. 311
Heinze, Berthold, Über die aus der Luft gewonnenen künstlichen Stickstoff-Düngemittel, Kalkstickstoff, Stickstoffkalk und Kalksalpeter und deren Bedeutung für die praktische Landwirtschaft. 502
—, Über die Verrottung des Stalldüngers. 503
Hennings, P., Exogone Kaiseriana P. Henn. n. g. et n. sp. 346
—, Fungi paraënses. III. 511
Henshaw, H. W., Birds useful in the wars against the cotton boll weevil. 548
—, Value of swallows as insect destroyers. 547
Herter, Guillermo, Hongos coleccionados en la República Oriental del Uruguay. 511
Hesse, Luise, Wie muß man Gemüse sterilisieren? 543
Heyer, Fermentative oder chemische Säuerung in der Brennerei. 303
Heymons, R., Ein neuer Troctes als Schädling in Buchweizengrütze. 337
Hildebrand, Über Lab und seine Prüfung auf Stärke. 313
Hiltner und **Lang,** Empfiehlt sich die Verwendung von Kalkstickstoff oder Kupfervitriol zur Hederichbekämpfung? 546
Hodgkiß, H. E. s. **Stewart, F. G.**
Höft, H., Die Konservierung von Butter und Käse. 543
Höft, Kann man aus dem chemischen Nachweis von Eisen in der Butter auf eine Qualitätsverminderung der Butter durch das Eisen schließen? 500
Höhnel, Franz von, Fragmente zur Mykologie. 510
—, Mykologisches, XXII. 338
Hoffmann Conrad s. **Hastings, E. G.**
Hunter, W. D., The most important step in the control of the boll weevil. 548
Huß, Harald, Pseudomonas Cowardi, eine pigmentbildende Bakterie (Orig.) 401

Jaap, Otto, Cocciden-Sammlung. 535
—, Drittes Verzeichnis zu meinem Exsiccatenwerk „Fungi selecti exsiccati," Serien IX—XII (Nummern 201—300), nebst Beschreibungen neuer Arten und Bemerkungen. 510
Jaccard, P. s. **Burnat, J.**
Jacobasch, Mehrere Monstrositäten und Verpa Brebissoni von einem zweiten Standorte. 374
Jahn, E., Myxomycetenstudien. 7. Ceratiomyxa. 343
Jourde, Antoine, Étude de quelques moisissures thermophiles (Aspergillus Micheli, Sterigmotocystis Cramer, Poecilomyces Bainier). 334
Jsrëal, Wilhelm, Über den Fraß von Tortrix viridana in Ostthüringen in den Jahren 1904—1908. 359

Karczag, Lászlo s. **Neuberg ,Carl.**
Karl, W. V., Some tomato fruits rots during 1907. 369
Kaserer, Hermann, Ersatz des Chilisalpeters in der Zukunft, a. Ersatz durch Stallmist und verschiedene wirtschaftliche Maßnahmen. b) Vom biologischen Standpunkte. 329
Kelhofer, W., Prüfung von Lactocolle, eines zur Schönung des Weines empfohlenen Kaseïnpräparates. 499
Keißler, K. von, Monströse Wuchsformen von Polyporus Rostkovii Fr. 542
—, Neue Pilze von den Samoa- und Salomons-Inseln. 512
—, Über Sclerotinia ecchinophila Rehm. 546
Kern, F. D., The existence of Roestelia penicillata and its tetial phase in North America. 348
—, The rust of timothy. 353
Kersten, H. E., Über die Haltbarkeit der Diphterie- und Paratyphus B-Bacillen in der Milch. 304
Kirchner, von, Brand und Rost des Getreides und ihre Bekämpfung. 391
Kirchner, O., Das Auftreten des Eichenmeltaues in Württemberg. 357
Klebahn, H., Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. VI. VII. 350
—, Düngungsversuche mit Phosphaten. 319
Kleine, R., Die europäischen Borkenkäfer und ihre Nahrungspflanzen in statistisch biologischer Beleuchtung. 538
Klöcker, Alb., Deux nouveaux genres de la famille des Saccharomycètes. 293
—, Emil Christian Hansen. 1
—, Endomyces javanensis nov. sp. 300
Klugkist, C. E., Zur Kenntnis der Schmarotzerpilze Nordwestdeutschlands. 339
Knischewsky s. **Neumann.**
Koch, Rudolf, Das Larvenleben des Riesenbastkäfers, Hylesinus (Dendroctonus) micans Kug. 536
Köck, G., Bakterien als Pflanzenschädlinge. 521

Köck, G., Über drei kryptogamische Erreger beachtenswerter Pflanzenkrankheiten. (Pseudoperonospora cubensis, Sphaerotheca Mors uvae und Fusarium sp. 519
—, und **Bretschneider, A.**, Vergleichende Versuche mit einigen Spritzmitteln gegen die Peronospora des Weinstockes. 392
Krause, Fritz, Scolecotrichum graminis Fuck. f. Avenae Erikss. (Orig.) 102
Kreitz s. **Appel, O.**
Krieg, W., Neue Infektionsversuche mit Uromyces Dactylidis Otth. (Orig.) 430
Krüger, Beobachtungen über Schädigung von Obstgehölzen durch arsenhaltige Brühen. 391
Krüger, W. und **Wimmer, G.**, Über die Herz- und Trockenfäule. 368
Kühl, Das Vorkommen einer Oidiumart auf eingemachten Früchten. 335
—, Zersetzung organischer Stoffe durch Bakterien. 333
Kürsteiner, J. s. **Burri, R.**

L., B., Bekämpfung des Traubenwicklers. 393
Laibach, F., Einige bemerkenswerte Erdbeerpilze. 356
Lamson, G. H., Infection and preservation of eggs. 336
Lang s. **Hiltner.**
Lang, Wilhelm, Die Blüteninfektion beim Weizenflugbrand. (Orig.) 86
Laubert, R., Über eine Exobasidiumkrankheit der Azaleen und den Meltau des Apfelbaumes. 356
Laurent, Emile, La Bactérie de la fermentation panaire. 502
—, Sur la prétendue origine bactérienne de la diastase. 499
—, Sur le microbe des nodosités des Légumineuses. 506
—, Les microbes du sol. 505
—, Recherches sur les nodosités radicales des Légumineuses. 506
Lauterborn, Bericht über die Ergebnisse der 5. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Basel-Mainz. 280
Lemmermann und **Fischer**, Untersuchungen über die Zersetzung der Kohlenstoffverbindungen verschiedener Gründüngungspflanzen. 317
— und **Tazenko**, Untersuchungen über die Umsetzung des Stickstoffs verschiedener Gründüngungspflanzen im Boden. 317
Lemon, A. H., A new ordinance to prevent the introduction of pest into the colony. 518
Lendner, Alfred, Les Mucorinées de la Suisse. 344
Leonardi, G., Esperienze contro la mosca dell' olivo. 539
Lindau, G., Paul Hennings †. 498
Lindner, Paul, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben mit einer Einführung in die technische Biologie, Hefenreinkultur und Infektionslehre, für Studierende und Praktiker bearbeitet. 287
Lipman, Jacob G. and **Brown, Percy E.**, Media for the quantitative estimation of soil bacteria. (Orig.) 447
Löb, Walther, Über die Aufnahme des Stickstoffs durch Alkohol unter dem Einfluß der stillen Entladung. 298
—, Über die Bildung von Buttersäure aus Alkohol unter dem Einfluß der stillen Entladung. 298
Ludwig, F., Die Milbenfauna der Käse. Ein Beitrag zum zoologischen Unterricht. 310
Lüstner, Insekten- und Pilzschäden in unseren Eichenwäldern. 359
Lüstner, G. und **Molz, E.**, Schutz der Weinrebe gegen Frühjahrsfröste. Leichtverständliche Darstellung zur Behandlung frostbeschädigter Reben. 395
Lutz, M. L., Sur l'accumulation des nitrates dans les plantes parasites et saprophytes et sur l'insuffisance de la diphénylamine sulfurique comme réactif microchimique des ces substances. 370

Magnus, Die Erkennung von Mehlverfälschungen durch die serumdiagnostische Methode. 381
—, Eine neue Ramularia aus Südtirol nebst Bemerkungen über das häufige Auftreten solcher Konidienformen in gebirgigen Gegenden. 527
Maire, R. et **Tison, A.**, La cytologie des Plasmodiophoracées et la classe des Phytomyxinae. 513
Mangin, L., Formation normale et formation désordonnée des conidies chez les Aspergillacées. 345
Marchal, P., Le borer géant de la canne à sucre. 538
Marsiglia, T. s. **Paris, G.**
Marsson, Bericht über die Ergebnisse der 5. biologischen Untersuchung des Rheins auf der Strecke Mainz bis Koblenz. 280
Martin, C. E., Observations mycologiques hibernales. 510
Masobey, E. George, Land utilisation of sewage. 282
Mattei, V., Azione novica della caldiocianamide sul mandorlo. 509
Maublanc, A. s. **Delacroix, G.**
— s. **Griffon.**
Maudoul, H. s. **Guiraud.**
Maximow, N., Zur Frage über das Erfrieren der Pflanzen. 376
Maxwell-Lefroy, H., The Castor semi-looper (Ophinsa melicerte Dr.) 371
McNeil, J. H. (J. M. ex err.), and **Pammel, L. H.**, The danger from feeding hay that containts Ergot. 529
Meisenheimer s. **Buchner.**
Michaelis, L. und **Rona, P.**, Bemerkung zu

der Mitteilung von Resenscheck in Bd. 15 p. 1 dieser Zeitschrift. 284
Mießner, Über die Giftigkeit der Rizinussamen. 335
Migliorato, Ermino, Contribuzioni della teratologia vegetale. V. Epiascidii apicali fogliari di Smilax aspera L. — VI. Anomalie fiorali e dei frutti di varie specie d'Eucalyptus. 542
Minkman, D. C. J. s. **Beijerinck, M. W.**
Molliard, M., Une nouvelle Plasmodiophorée, parasite du Triglochin palustre. 354
Molz, Über ein plötzliches Absterben zweier Stöcke von Riparia Rupestris in dem Reben-Veredlungsgarten der kgl. Lehranstalt in Geisenheim. 364
Molz, E. s. **Lüstner, G.**
Moncure, W. A. P. and **Ellett, W. B.,** The domination of fermentation by the use of selected yeasts. 500
Montemartini, L., La screpolatura del granturco. 528
Müller, Gustav, Mikroskopisches Praktikum der Botanik für Lehrer. Teil I. Die Zelle und der Vegetationskörper der Phanerogamen. 379
Müller, Karl, Über das Auftreten von epidemischen Meltaukrankheiten in Baden. 346
Murrill, W. A., Collecting fungi in Jamaica. 512

Nalepa, A., Eriophyden. (Botanische und zoologische Ergebnisse einer wissenschaftlichen Forschungsreise nach den Samoa-Inseln, dem Neuguinea-Archipel und den Salomonsinseln. Teil VI.) 374
Némec, B., Über die Natur des Bakterienprotoplasten. 275
Netopil, J., Fulmek, L., Wahl, B., und **Zimmermann, H.,** Das Karbolineum als Pflanzenschutzmittel. 543
Neuberg, Carl und **Cappezzuoli, Cesare,** Biochemische Umwandlung von Asparagin und Asparaginsäure in Propionsäure und Bernsteinsäure. 285
Neuberg, Carl und **Karczag, László,** Verhalten von d, l-a-Aminoisovaleriansäure (d, l Valin) bei der Fäulnis. 285
—, Verhalten von racemischer Glutaminsäure bei der Fäulnis. 285
Neumann s. **Buchwald.**
— und **Knischewsky,** Studien über die Teiggärung. II. Die Hefevermehrung im Teig. 314
Noelli, A., Nuove osservazioni su la Peronospora effusa (Grev.) Rab. 530

Olive, E. W., Sexual cell fusions and vegetation nucle divisions in the rusts. 346
Oppenheimer, C., Methodologie der Enzymforschungen. 283
Osterwalder, A., Unbekannte Krankheiten an Kulturpflanzen und deren Ursachen. (Orig.) 260
Ottolenghi, D., Über die feinere Struktur der Hefen. (Orig.) 407
Ozonierung des Cuxhavener Fischmarktes. 388

Pammel, L. H. s. **McNeil, J. H.**
Pantanelli, E., Ricerche fisiologiche su le viti americane oppresse da galle fillosseriche. 534
Pantel, J. et **Sinety, R. de,** Sur l'apparition de mâles et d'hermaphrodites dans les pontes parthénogénétiques de Phasmes. 532
Paris, G. e **Marsiglia, T.,** La riduzione dei nitrati nella fermentazione alcoolica. 320
Parrozzani, A. s. **Scurti, F.**
Peck, Ch. H., New species of fungi. 510
Peglion, V., Su la lotta contro alcune avversita delle piante erbacee. 382
Peklo, Jaroslav, Beiträge zur Lösung des Mykorrhizaproblems. 517
—, Die epiphytischen Mykorrhizen nach neuen Untersuchungen. I. Monotropa, Hypopitys L. 517
Pennington, L. H., Mycorrhiza-producing Basidiomycetes. 349
Percival, John, Potato „Wart" disease: the life history and cytology of Synchytrium endobioticum (Schilb.) Percl. (Orig.) 440
Perotti, Renato, Über den biochemischen Kreislauf der Phosphorsäure im Ackerboden. (Orig.) 409
Pleißner, Über die Messung und Registrierung des elektrischen Leitvermögens von Wässern mit Hilfe von Gleichstrom. 382
Pohl-Rohrbeck, H., Wie ist der Ausfall von Stallmist bei Mißernten zu ersetzen? 318
Porchet, Fd., Contribution à l'étude de l'adhérence des produits cupriques. 544
Preißecker, Karl, Ein kleiner Beitrag zur Kenntnis des Tabakbaues im Smoskauer Tabakbaugebiete. 361
Price and **Stokes,** The pollution of streams by distillery waste. 499
Prucha, M. J. s. **Harding, H. A.**

Raciborski, W., Opisy kilku rdzy Jawy. 347
Reed, H. S. s. **Schreiner, O.**
Remy, Th., und **Schneider G.,** Beobachtungen über das Auftreten der Blattrollkrankheit. 366
Renezeder, Heinrich, Einiges aus dem Kreislaufe der Materie: Reinigung und Verwertung städtischer Abwässer. 383
R(idley), H. N., A camphor pest. 357
—, A disease of cloves. 352
—, Some diseases of rubber plants. 363
—, Some insect pests. 370
Riehm s. **Appel, O.**
Rogers, L. A., Fishy flavor in butter. 307
—, and **Gray, C. E.,** The influence of acidity of cream on the flavor of butter. 307
Rona, P. s. **Michaelis, L.**

Rorer, James B. s. **Scott, W. M.**

—, A bacterial disease of the peach. 355

Roth, Julius s. **Zemplén.**

Rubner, Max, Grundlagen einer Theorie des Wachstums der Zelle nach Ernährungsversuchen an Hefe. 275

Ruby, J. s. **Chapelle, J.**

Ruhland, W., Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. 277

—, und **Faber, C. F., von** Zur Biologie der Plasmopara viticola. 363

Saccardo, P. A., Notae mycologicae. Series X. 340

—, L'oidio della quercia. 531

Sartory, A., Caractères biologiques et pouvoir pathogène du Sterigmatocystis insueta Bainier. 345

Schander, R., Kartoffelkrankheiten. 364

Scherpe, Über den Einfluß des Schwefelkohlenstoffs auf die Stickstoffumsetzungsvorgänge im Boden. 321

Schikorra, Walter, Über die Entwicklungsgeschichte von Monascus. 514

Schmidt, Ernst Willy, Oedocephalum glomerulosum Harz, Nebenfruchtform zu Pyronema omphalodes (Bull.) Fckl. (Orig.) 80

—, Über den Parasitismus der Pilze. 338

—, Zur Methodik von Infektionsversuchen an höheren Pflanzen. (Orig.) 426

Schneider, G. s. **Remy, Th.**

Schneider-Orelli, O., Beitrag zur Kenntnis der schweizerischen Weidenmelampsoren (Orig.) 436

Schreiber, Karl, Raupenkalender. Nach Futterpflanzen geordnet für mitteleuropäisches Faunengebiet. 371

Schreiner, O., and **Reed, H. S.,** The role of oxydation in soil fertility. 506

Schroeder, H., Über die Einwirkung von Äthyläther auf die Zuwachsbewegung. 277

Schwartz, Mittel gegen schädliche Insekten. 547

Scott, W. M., and **Rorer, James B.,** Apple blotch, a serious disease of southern orchards. 354

Scurti, F., e **Parrozzani, A.,** Sul potere lipolitico dei semi di croton tiglio. 284

Seaver, F. J., Notes of North American Hypocreales I. 345

—, North Dakota slime-moulds. 343

Severin, A. S., Über die Bakterienflora einiger Bodenportionen aus dem fernen Norden (Obdorsk und Halbinsel Jamal). (Orig.) 470

—, Zur Frage der Zersetzung von salpetersauren Salzen durch Bakterien. (Orig.) 479

Shear, C. L., The present treatment of monotypic genera of fungi. 339

Sheldon, J. L., Notes on Uromyces. 346

Sicard, H., Un nouveau parasite de la Pyrale de la vigne. 395

Sigmund, Wilhelm, Über ein salicinspaltendes und ein arbutinspaltendes Enzym. 285

Simon, J., Neuere Ergebnisse bodenbakteriologischer Forschungen, ihr Wert für die landwirtschaftliche Praxis. 315

Sinety, R. de, s. **Pantel, J.**

Smith, Ewing, Report on diseased rubber trees forwarded grom Puak. 363

Soave, M., Intorno al meccanismo dell' impiego del gesso in agricultura. 505

Sorauer, P., Ein interessanter Fall von Ammoniakvergiftung. 375

Spegazzini, C., Una nueva amenaza para los durazneros. 355

Squires, J. H., Experiments in the growth of clover on farms where it once grew but now fails. 329

Stevens, F. L., und **Hall, J. G.,** Eine neue Feigen-Anthraknose (Colletotrichose). 355

—, and **Withers, W. A.,** Studies in Soil Bacteriology. III. Concerning methods for determination of nitrifying and ammonifying powers. (Orig.) 64

Stewart, F. G., and **Hodgkiß, H. E.,** The Sporotrichum bud rot of carnations and the silver top of june grass. 346

Stichel, Roland, Merodon equestris F. (Dipt.) als Schädling im Warmhaus. 535

Stockdale, F. A., Fungus diseases of cacao and sanitation of cacao orchards. 360

—, Root disease of sugar-cane. 352

Störmer, K., Die Bekämpfung der Blutlaus an Obstbäumen. 391

Stokes s. **Price.**

Stoklasa und **Ernest,** Beiträge zur Lösung der Frage der chemischen Natur des Wurzelsekretes. 331

Strauák, Fr., Zur Assimilation des Luftstickstoffes durch im Boden freilebende Mikroorganismen. 320

Strube, Züchterische Maßnahmen zur Bekämpfung des Staubbrandes beim Weizen. 545

Sturli, Adriano, Über ein in Schimmelpilzen (Penicillium glaucum) vorkommendes Gift. 334

Sydow, H. et **P.,** Micromycetes japonici. 511

Szomjas, Gustav von, Von der Vogelwelt verhinderter Raupenfraß. 547

Tazenko s. **Lemmermann.**

Theißen, F., Hypoxylon annulatum und sein Formenkreis. 349

Thöni, J., s. a. **Burri, R.**

—, Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora von nach Emmentalerart bereiteten Käsen in verschiedenen Reifungsstadien. 501

—, und **Allemann, O.,** Über das Vorkommen von gefärbten, makroskopischen Bakterienkolonien in Emmentalerkäsen. (Orig.) 8

Tigerstedt, R., Handbuch der physiologischen Methodik. 380
Tison, A., s. **Maire, R.**
Torrend, C., Catalogue raisonné des Myxomycètes du Portugal. 342
Torrend, C., Flore générale des Myxomycètes. 343
Tranzschel, W., Kulturversuche mit Uredineen im Jahre 1908. 347
Tròtter, A., La recente malattia delle Querce. 357
—, Un caso di „tuberizzazione parassitaria“ in piante di Amarantus silvestris Desf. (Nota prelimare.) 375

Ulrich, P., s. a. **Busse, W.**
Ulrich, P., Der Kleekrebs. 530

Vahle, Carl, Vergleichende Untersuchungen über die Myxobakteriazeen und Bakteriazeen, sowie die Rhodobakteriazeen und Spirillazeen. (Orig.) 178
Verworn, M., Allgemeine Physiologie. Ein Grundriß der Lehre vom Leben. 274
Vestergren, T., Aecidium alascanum Trel. und Aecidium Orchidacearum Desm. 526
Vosseler, J., Eine Bohrraupe an Zwiebelgewächsen. 352

Wahl, B. s. **Netopil, J.**
Wahl, Bruno, und **Zimmermann, Hugo,** Versuche über die Verwendbarkeit wässeriger Lösungen von Lysol und Kupferlysol (Kysol) zum Pflanzenschutz. 390
Walker, L. B., A new form of Sphaeropsis on apples. 354
Welleba, Fr., Anleitung zur Mikroskopie und Mikrophotographie für Anfänger. 379
Werth, Untersuchungen über die Infektion von Melandryum album durch Ustilago antherarum. 364
White, Benjamin and **Avery, Oswald, T.,** Observations on certain lactic acid Bacteria of the so-called Bulgaricus type. (Orig.) 161
Winge, O., s. **Ferdinandsen, C.**
Winkler, W., Die Verwendung von Reinkulturen in der Molkereipraxis. 303
Withers, W. A. s. **Stevens, F. L.**
Wolf, F. A., A root rot of grapes due to Pestalozzia uvicola. 364
Wollenweber s. **Appel, O.**
Wünn, Hermann, Beobachtungen über eine in Mitteleuropa eingeschleppte Höhlenheuschrecke. 372
Wüstenfeld, Hermann s. **Buchner, Eduard.**

Zach, F., Über den in den Wurzelknöllchen von Elaeagnus angustifolia und Alnus glutinosa lebenden Fadenpilz. 515
Zemplén, Géza und **Roth, Julius,** Beiträge zur Stickstoffaufnahme des Waldes. 327
Zimmermann, H. s. **Netopil, J.**
Zimmermann, Hugo s. **Wahl, Bruno.**
Zschokke, Th., Versuche mit Karbolineum und Reflorit an Obstbäumen. 390

II. Namen- und Sachverzeichnis.

Absidia spinosa n. sp. 345
Abwasser, Reinigung, biologische. 282
—, — und Verwertung. 383
—, Sauerstoffzehrung. 551
—, Verwertung. 281, 282. 383
Acacia, Schädigung durch Aecidium Hieronymi. 512
—, — — Fusarium. 512
—, — — Phoma legriminum. 512
—, — — Ravenelia Hieronymi. 512
—, — — Uromyces discoideus. 347
Acalypha australis, Schädigung durch Cercospora profusa. 511
Acer Pseudoplatanus, Schädigung durch Illosporium Diedickeanum. 341
Achatina fulminatrix, Schädling von Agave. 523
Achillea, Millefolium, Schädigung durch Tuberculina microstigma. 341
Achyranthes bidentata, Schädigung durch Cercospora Achyranthis. 511
Acronodia punctata, Schädigung durch Puccinia Puspa. 347
Actinidia arguta, Schädigung durch Aecidium Actinidiae. 511
Actinomyces, Mykorrhizabildung an Myrica Gale. 517
Aecidium, Schädling von Berberis. 512
— Actinidiae n. sp., Schädling von Actinidia arguta. 511
— alascanum, Schädling von Habenaria gracilis. 526
— —, Unterschied von A. Orchidacearum. 526
— Elaeocarpi n. sp., Schädling von Elaeocarpus longifolius. 347
— Hieronymi, Schädling von Acacia. 512
— houstoniatum, Beziehung zu Uromyces houstoniatus. 346
— Modiolae, Schädling von Modiola. 512
— Orchidacearum, Unterschied von A. alascanum. 526
— Paramignyae n. sp., Schädling von Paramignya Blumei. 347
— Pascheri n. sp., Schädling von Scopolia japonica. 525

Aecidium, Trigonotidis n. sp., Schädling von Trigonotis peduncularis. 511
— violae, Beziehung zu Uromyces andropogonis. 346
Aelchen, Gallenbildung an Ascobolus furfuraceus. 375
Aeruginospora singularis n. gen. et n. sp. 510
Aether, Wirkung auf das Wachstum von Hafer. 277
Afzelia, Schädigung durch Hyaloderma Afzeliae. 513
Agaricus. 512
Agaven, Schädigung durch Achatina fulminatrix. 523
Agropyrum occidentale, Schädigung durch Claviceps purpurea. 529
Albugo, Schädling von Raphanus sativus. 511
Alchimilla, Schädigung durch Sphaerotheca humuli. 525
Aleurobius farinae, Vorkommen auf Käse. 310
Aleyrodes, natürliche Feinde. 371
—, Schädling von Allamanda. 372
—, — — Camellia. 372
—, — — Citrus. 372
—, — — Coffea. 372
—, — — Diospyros Kaki. 372
—, — — — Virginiana. 372
—, — — Fagara Clava-Herculis. 372
—, — — Ficus. 372
—, — — Gardenia jasminoides. 372
—, — — Laurocerasus. 372
—, — — Ligustrum. 372
—, — — Lonicera. 372
—, — — Melia Azedarach. 372
—, — — Michelia. 372
—, — — Nerium. 372
—, — — Pirus. 372
—, — — Punica. 372
—, — — Quercus. 372
—, — — Rubus. 372
—, — — Sabal. 372
—, — — Smilax. 372
—, — — Syringa. 372
—, — — Viburnum. 372
Algen, Vorkommen im verunreinigten Flußwasser. 499
Alkohol, Entstehung von Buttersäure durch stille Entladung. 298
Allamanda, Schädigung durch Aleyrodes. 372
Allium ursinum Schädigung durch Melampsora Allii-Salicis albae. 437
Alnus, Mykorrhiza. 517
Alnus, Schädigung durch Botrytis latebricola. 511
Alnus, glutinosa, Schädigung durch Leptothyrium alneum. 351
— —, Wurzelknöllchen, Pilz in denselben. 515
— viridis, Schädigung durch Cyphella fasciculata. 338
Alocasia metallica, Schädigung durch Caeoma Anthurii var. Alocasiae. 347
Alternaria Brassicae f. Phaseoli, Schädling von Phaseolus vulgaris nanus. 529
— fasciculata, Schädling von Tomaten. 369
Althaea rosea, Schädigung durch Puccinia malvacearum. 520
Aluminiumsalze, Wirkung auf Protoplasma 276
Amarantus silvestris, Schädigung durch Cystopus Blitii. 375
Amaryllis vittata, Schädigung durch Merodon equestris. 535
Ambrosia trifida (?), Schädigung durch Hyponectria dakotensis. 345
Ameisensäure, Wert derselden als Konservierungsmittel. 385
Aminoisovaleriansäure, Fäulnis. 285
Ammoniak, Schädigung von Azaleen. 375
—, — — Kokospalmen. 375
Ananas, Vorkommen von Oidium. 335
Andropogon macranthus genuinus, Schädigung durch Puccinia Andropogonis-macranthi. 526
Antholyza bicolor, Schädigung durch Asteroma Antholyzae. 340
Anthostomella Bonanseana n. sp., Schädling von Cereus geometricans. 341
Antisual, Wert als Bekämpfungsmittel. 547
Apfelbaum, Schädigung durch Bacillus amylovorus. 521
— ,— — Phyllosticta solitaria. 354
—, — — Podosphaera leucotricha. 356
—, — — Schizoneura lanigera. 520
—, — — Sphaeropsis malorum. 354
Apfelweingärung mit Reinhefen. 500
Aphanomyces laevis, Schädling von Zuckerrüben. 367
Aphis brassicae (?), Schädling von Brassica. 520
— persicae (?), Schädling vom Pfirsichbaum. 520
Apiosporium salicinum, Schädling vom Pfirsichbaum. 520
Apium, Schädigung durch Septoria petroselini var. apii. 520
— graveolens, Schädigung durch Bacillus Apii. 521
— —, — — Septoria Petroselini var. Apii 512
— —, — — — — — — — forma emaculata. 340
Apocynea Ischnocarpus bantamensis, Schädigung durch Uredo Chonemorphae. 347
Arbutase, Vorkommen in Calluna vulgaris. 285
—, — — Vaccinium Myrtillus. 285
Arbutus Unedo, Schädigung durch Gloeosporium anceps. 340
Arctostaphylus uva ursi, Schädigung durch Naemacyclus penegalensis. 511
Arcyria annulifera n. sp., Vorkommen in Portugal. 343
— denutata, Vorkommen in Dakota. 343

Arcyria incarnata, Vorkommen in Dakota. 343
Areca Rechingeriana, Schädigung durch Hainesia Palmarum. 513
Arginin, Vorkommen im Käse. 502
Armillaria. 512
Arsenbleibrühe, Wert als Bekämpfungsmittel. 391
Arundinaria japonica, Schädigung durch Colletotrichum Metake. 340
Aschersonia, Schädigung durch Cladosporium. 372
—, aleyrodis, natürlicher Feind von Aleyrodesarten. 371
— flavo-citrina, natürlicher Feind von Aleyrodesarten. 371
Ascobolus furfuraceus, Gallenbildung durch Aelchen. 375
Ascochyta Semeles n. sp., Schädling von Semele androgyna. 340
Asparagin, Zersetzung in Propionsäure und Bernsteinsäure. 285
Aspergillus candidus, endogene Konidienbildung. 334
— glaucus, Konidienbildung, Wirkung der Temperatur. 345
— herbariorum, Unterschied von A. repens 513
— niger, Verwendung zur Bodenuntersuchung. 314
Aspidiotus abietis, Schädling von Pinus austriaca. 535
Asprella hystrix, Schädigung durch Claviceps purpurea. 529
Aster tripolium, Schädigung durch Ramularia asteristripolii. 511
Asterolecanium quercicola, Schädling von Quercus robur. 535
Asteroma Antholyzae n. sp., Schädling von Antholyza bicolor. 340
— Padi, Beziehung zu Gnomonia padicola. 350
— —, Schädling von Prunus Padus. 350
Avena sativa s. a. Hafer.
— —, Schädigung durch Puccinia coronifera. 512
— —, — — Ustilago Avenae. 512
Azaleen, Schädigung durch Ammoniak. 375
—, — — Septoria Azaleae. 356
Azotobacter, Impfversuche. 321
—, Stickstoffbindung. 271
— chroococcum, Stickstoffbindung. 320
Bacillus amylovorus, Schädling von Obstbäumen. 521
— anthracis, Ähnlichkeit mit Bacterium caucasicum. 167
— Apii, Schädling von Apium graveolens. 521
— Betae, Schädling von Beta vulgaris. 521
— bulgaricus, Milchsäurebildung. 172
— —, Unterschied vom Körnchenbacillus. 163
Bacillus bulgaricus, Untersuchung. 164
— —, Vergärung von Dextrose. 171
— —, — — Laktose. 171
— —, Vorkommen in Milch. 420
— carotovorus, Schädling von Möhren. 521
— coli, Vermehrung, Wirkung der Temperatur. 281
— lactis acidi, Vorkommen in Milch. 420
— lunula n. sp., Sporenbildung. 279
— Mazun, Körnchenbildung. 167
— Moro carneus, Schädling vom Maulbeerbaum. 522
— nitroxus, Denitrifikation. 45
— omnivorus, Schädling von Iris. 521
— oxalaticus, Morphologie. 229
— —, Physiologie. 233
— panificans, Sauerteiggärung. 502
— paralacticus, Untersuchung. 164
— Phaseoli, Schädling von Phaseolus. 521
— putrificus, Buttersäurebildung. 279
— —, Vorkommen im Käse. 493
— pyocyaneus, Denitrifikationsvermögen. 479
— —, Stickoxydulbildung. 51.
— sphaerosporus, Denitrifikation. 45
— spirogyra n. sp., Sporenbildung. 278
— Stutzeri, Stickoxydulbildung. 51
— tracheiphilus, Schädling von Cucumis sativus. 521
— uvae, Schädling von Vitis vinifera. 521
— Zeae, Schädling von Zea Mays. 521
Bacterium acidi propionici var. fuscum, Untersuchung. 17
— — — — —, Vorkommen im Emmentalerkäse. 22
— caucasicum, Ähnlichkeit mit Bacillus anthracis. 167
— Güntheri, Vorkommen im Emmentalerkäse. 14
— lactis acidi s. Bacterium Güntheri.
— Mori, Schädling vom Maulbeerbaum. 522
— pruni, Schädling vom Pfirsichbaum. 355
— —, — — Pflaumenbaum. 355
— Yoghurt, Untersuchung. 165
Badhamia capsulifera var. libera n. var., Vorkommen in Portugal. 343
Bakterien, Bedeutung für die Landwirtschaft. 273
—, — im Naturhaushalt. 273
—, Boden-, Nährböden für quantitative Bestimmung. 447
—, —, Nitrifikation. 64
—, —, Untersuchungsmethoden. 454
—, —, vergleichende Versuche über Untersuchungsmethoden. 108
—, —, Wirkung auf Polygonum Fagopyrum. 505
—, Farbenfehler von Emmentalerkäse durch dieselben. 9
—, Farbstoffbildung. 246. 403 405
—, Knöllchen-, Eindringen in die Wirtspflanze. 506

Bakterien, Knöllchen-, Impfung von Sojabohnen. 506
—, —, Kultur. 505
—, Löslichmachung von Phosphaten. 414
—, neue Milchsäure-. 421
—, —, schleimbildende, Vorkommen in Emmentalerkäse. 308
—, —, Untersuchung. 161
—, Protoplasma, Natur desselben. 275
—, Schädlinge von Gurken. 521
—, — — Hyazinthen. 521
—, — — Kartoffeln. 521
—, — — Levisticum officinale. 260
—, — — Mais. 521
—, — vom Maulbeerbaum. 522
—, — — Weinstock. 521
—, — von Möhren. 521
—, — — Sellerie. 521
—, — — Tomaten. 521
—, — — Weizen. 521
—, Stickoxydulzersetzung. 58
—, Stickstoffbindung. 271. 320. 329
—, Vorkommen im Boden. 64. 108. 315 447. 448. 470
—, — in Eiern. 336
—, — im Käse. 8. 22. 307. 308. 401 492. 501
—, — — Leitungswasser. 280
—, — in Milch. 161. 304. 311. 420 465
—, — im Wasser. 280. 311
—, — am Kuheuter. 465
—, Zählung, Nährböden. 447. 457
—, Zersetzung organischer Stoffe. 333
Bakterienringkrankheit der Kartoffel. 364 521
Bakteriologie, Untersuchungsmethoden. 380. 471
Bambusa, Vorkommen von Polystictus occidentalis. 353
Bananen, Schädigung durch Castnia licus. 539
Basidiomyceten, Systematik. 349
Baumwollrüsselkäfer, Bekämpfung. 548
Baumwollstaude, Schädigung durch Dysdercus cingulatus. 370
Begonia, Schädigung durch Oidium. 511
Benzoësäure, Wert derselben als Konservierungsmittel. 383
—, Wirkung auf Hefepreßsaft. 295
Berberis, Schädigung durch Aecidium. 512
Bernsteinsäure, Vorkommen bei alkoholischer Gärung. 295
Beta vulgaris s. a. Zuckerrübe.
Beta vulgaris, Schädigung durch Bacillus Betae. 521
— —, — — Cercospora beticola. 512
— —, — — Uromyces Betae. 512
Betula alba, Schädigung durch Myxocyclus polycystis. 340
Biatorella resinae, Beziehung zu Zythia resinae. 511
Biochemie, Arbeitsmethoden. 377
Biologie, technische. 287
Birnbaum, Schädigung durch Bacillus amylovorus. 521
—, — — Podosphaera leucotricha. 356
—, — — Psylla pirisuga. 535
Biscutella, Schädigung durch Puccinia Isiacae. 348
Blattabfall, Wirkung des Frostes auf denselben. 376
Blattrollkrankheit der Kartoffel. 364. 366 520
— — —, Bedeutung der Witterung. 520
Blechnum orientale, Schädigung durch Uredo orientalis. 347
Blutlaus, Bekämpfung mit Karbolineum. 390
„Blutlaustod“ von Dr. Guichard, Wert als Bekämpfungsmittel. 547
Boden, Müdigkeit, Kalkdüngung. 382
—, Stickstoff, Untersuchungsmethoden. 381
—, Untersuchung mit Aspergillus niger. 314
Bodenbakterien s. Bakterien, Boden-.
Bodenbakteriologie, Wert für die Landwirtschaft. 315
—, Oxydation. 506
—, Vorkommen von Bakterien. 64. 108 315. 447. 448. 470
Bodengifte. 506
Bohnen s. a. Phaseolus.
—, Schädigung durch Erysiphe communis. 520
—. — — Sclerotinia Libertiana. 520
—, — — Uromyces phaseoli. 520
Boletus. 512
— Morrisii n. sp. 510
— speciosus, Mykorrhyzabildung an Eichen 349
Bombax malabaricum, Schädigung durch Dysdercus cingulatus. 370
Bordeauxbrühe, Bekämpfungsmittel gegen Plasmopara. 546
—, Haftfestigkeit. 544
Borkenkäfer, Wirtspflanzen. 538
Botanik, Praktikum, mikroskopisches und physiologisches. 379
Botryodiplodia, Schädling von Kokospalmen. 351
Botrytis latebricola n. sp., Schädling von Alnus. 511
— — — —, — — Fagus. 511
— uredinicola n. sp., Vorkommen auf Panicum virgatum. 510
Brachycladium ramosum n. sp. 339
— spicatum n. sp. 339
— spiciferum n. sp. 339
Brassica, Schädigung durch Aphis brassicae. 520
—, — — Peronospora parasitica. 520
—, — — Pseudomonas campestris. 521
— rapa, Schädigung durch Pseudomonas destructor. 521
Bromus arvensis, Schädigung durch Tilletia Velenovskyi. 349

Bromus mollis, Schädigung durch Ustilago bromivora. 520
— unioloides, Schädigung durch Ustilago bromivora. 520
Brusonekrankheit des Reis, Ursache. 529
Buche, Schädigung durch Frost. 524
Buchweizen, Vorkommen von Troctes corrodens in Grütze. 337
Bupleurum rotundifolium, Schädigung durch Puccinia Isiacae. 348
Butter, Bereitung mit Reinkulturen. 303
—, fischiger Geschmack. 307
—, Konservierung. 543
—, Vorkommen von Eisensalzen. 500
Buttersäure, Bildung durch Bacillus putrificus. 279
—, Entstehung aus Alkohol durch stille Entladung. 298
Caeoma Anthurii var. Alocasiae n. var., Schädling von Alocasia metallica. 347
— Saxifragae, Schädling von Saxifraga. 438
Calamagrostis canadensis, Schädigung durch Claviceps purpurea. 529
Calceolaria rugosa, Schädigung durch Phytophthora omnivora. 265
Calluna vulgaris, Vorkommen von Arbutase. 285
Calonectria flavida, Schädling vom Kakaobaum. 360. 522
Calotermes militaris, Schädling vom Teestrauch. 389
Camellia, Schädigung durch Aleyrodes. 372
—, — — Rußtau. 520
— japonica, Schädigung durch Pestalozzia discolor. 512
Capsella bursa pastoris, Schädigung durch Cystopus candidus. 520
Carex siderosticta, Schädigung durch Puccinia Miyakei. 511
Carpinus Betulus, Schädigung durch Charonectria succinear var. bractearum. 340
— —, — — Phragmotrichum Flageoletianum. 340
— —, Vorkommen von Zythia coeruleoatra. 510
Carpoglyphus anonymus, Vorkommen auf Käse. 310
Caseoglutin, Vorkommen im Käse. 502
Castanea vesca, Schädigung durch Harziella Castaneae. 340
— —, — — Sclerotinia ecchinophila. 546
Castnia licus, Schädling von Bananen. 539
— —, — — Orchideen. 538
— —, — — Zuckerrohr. 538
Celtis occidentalis, Schädigung durch Gyroceras divergens. 510
— Tala, Schädigung durch Uncinula polychaeta. 512
Centospora phacidioides, Beziehung zu Phacidium multivalve. 511
Cephaliophora irregularis. 340
— nigricans n. sp. 340
— tropica. 340
Ceracea aureoflava, Identität mit Dacrymyces confluens. 510
Ceratiomyxa, Sporenbildung, Kernverhältnisse. 343
Cercis Siliquastrum, Schädigung durch Septoria Cercidis. 340
Cercospora Achyranthis n. sp., Schädling von Achyranthes bidentata. 511
— beticola, Schädling von Beta vulgaris. 512. 520
— biformis n. sp., Schädling von Passiflora incarnata. 510
— Bloxami, Schädling von Kohlrüben. 520
— brunnea n. sp., Schädling von Prenanthes altissima. 510
— obtegens n. sp., Schädling von Hydrangea hortensis. 511
— profusa n. sp., Schädling von Acalypha australis. 511
Cereus, Schädigung durch Dendrodochium verticilloides. 341
— geometricans, Schädigung durch Anthostomella Bonanseana. 341
— —, — — Fusarium candidulum. 341
— —, — — Phoma Bonanseana. 341
Chalcis minuta, natürlicher Feind von Parerynnia vibrissata. 395
Charonectria succinea var. bractearum, Schädling von Carpinus Betulus. 340
Chionaspis salicis, Schädling von Populus tremula. 535
Chloralhydrat, Wirkung auf Hefepreßsaft. 295
Chlorella communis, Wirkung des osmotischen Druckes auf das Wachstum. 380
Chloris distichophilla, Schädigung durch Phyllachora Eleusinis. 511
Chloroform, Wirkung auf Hefepreßsaft. 295
Chondromyces crocatus, Hexenringbildung. 212
Chorostate Sydowiana n. sp., Schädling von Sorbus aucuparia. 340
Chrysanthemum, Schädigung durch Puccinia chrysanthemi. 520
—, — — Rußtau. 520
— indicum, Schädigung durch Puccinia compositarum. 512
Chrysophlyctis endobiotica, cytologische Untersuchung. 443
— —, Schädling von Kartoffeln. 440
— —, Zoosporenbildung. 441
Cienkowskia reticulata, Vorkommen in Dakota. 343
Cinnamonum Camphora, Schädigung durch Eumeta Hekmeyeri. 357
Circinella minor n. sp. 345
Citromyces, Mykorrhizabildung an Fagus. 517
— citricus, Zitronensäuregärung. 302
Citrus, Schädigung durch Aleyrodes. 372
—, — — Meliola. 372
Cladosporium, Schädling von Aschersonia. 372

Clastoderma De Baryanum, Vorkommen in Havana. 343
Clathrus. 512
Claviceps purpurea, Schädling von Agropyrum occidentale. 529
— —, — — Asprella hystrix. 529
— —, — — Calamagrostis canadensis. 529
— —, — — Elymus robustus. 529
— —, — — Glyceria nervata. 529
— —, — — Koeleria cristata. 529
— —, — — Phalaris arundinacea. 529
— —, — — Phleum pratense. 529
— —, — — Poa. 529
— —, — — Secale cereale. 529
— —, Viehsterben durch dasselbe in Nordamerika. 529
Clematis cirrosa, Schädigung durch Septoria Cirrosae. 340
Clitopilus Davisii n. sp. 510
Clivea, Schädigung durch Gluttula pankratii. 352
Clostridium persicae tuberculosis, Schädling von Obstbäumen. 521
Cocciden, Vorkommen von Torrubiella brunnea. 513
Cocos mucifera s. a. Kokospalme.
— —, Schädigung durch Eutipella Cocos. 512
Coffea s. a. Kaffeebaum.
—, Schädigung durch Aleyrodes. 372
— arabica, Schädigung durch Myrothecium advena. 340
— congensis, Immunität gegen Hemileia. 360
— stenophylla, Immunität gegen Hemileia. 360
Coleosporium Evodiae n. sp., Schädling von Evodia meliaefolia. 526
— Paederiae n. sp., Schädling von Paederia tomentosa. 526
Coleopuccinia simplex n. sp., Schädling von Eriobotrya japonica. 526
Colletotrichum Carica n. sp., Schädling vom Feigenbaum. 355
— lycopersici, Schädling von Tomaten. 369
— Metake n. sp., Schädling von Arundinaria japonica. 340
Commelina, Schädigung durch Uredo pedicellata. 347
Conchylis ambiguella, Bekämpfung. 393
Coniophora cerebella, Unterschied von Merulius domesticus. 528
Coniothecium radians n. sp., Schädling von Populus Tremula. 341
Corditubera microspora n. sp. 510
Coriolus. 512
Corticium lilaceo-fuscum, Schädling vom Kakaobaum. 360
Cortinarius, Mykorrhyzabildung an Eichen. 349
Corylus avellana, Schädigung durch Lecanium persicae. 511
Corylus, Colurna, Schädigung durch Gloeosporium Vogelianum. 341
Cribraria minutissima, Vorkommen in Carolina. 343
— piriformis var. maxima n. var., Vorkommen in Portugal. 343
— violacea, Vorkommen in Havana. 343
Crinum, Schädigung durch Gloeosporium Crini. 340
—, — — Glottula pankratii. 352
—, — — Phyllosticta Crini. 340
Croton Tiglium, Autolyse des Samenbreis. 284
Cryptococcus fagi, Schädling von Fagus silvatica. 535
Cucumis sativus, Schädigung durch Bacillus tracheiphilus. 521
— —, — — Pseudoperonospora cubensis. 519
Cunninghamella elegans n. sp. 345
Cuscuta, Schädling von Luzerne. 520
— racemosa, Schädling von Rotklee. 370
Cylindrosporium Fairmanianum n. sp., Schädling von Spiraea lanceolata. 341
— septatum forma Helosciadii, Schädling von Helosciadium nodiflorum. 340
Cynosurus cristatus, Schädigung durch Puccinia. 512
Cyphella fasciculata, Schädling von Alnus viridis. 338
Cystopus Blitii, Schädling von Amarantus silvestris. 375
— candidus, Schädling von Capsella bursa pastoris. 520
— cubicus, Schädling von Tragopogon. 520
— ipomaeae panduranae, Schädling von Ipomaea. 520
Cytospora melasperma var. Fraxini, Identität mit Dendrophoma pruinosa. 510
— myricae-gales n. sp., Schädling von Myrica gale. 511
— sororia n. sp., Schädling von Myrica gale. 511
Dacrymyces adpressus, Identität mit Tremella mesenterica. 510
— conigenus, Identität mit Pseudopatellina conigena. 510
Daedalea. 512
Dasyscypha rosae n. sp., Schädling von Rosa. 511
Datura Stramonium, Schädigung durch Oidium. 512
Debaryomyces globosus n. gen. et n. sp., Diagnose. 293
Dendrodochium verticilloides n. sp., Schädling von Cereus. 341
Dendryphium fumosum. 339
— nodulosum. 339
— toruloides. 339
Denitrifikation, Bildung von Stickoxydul. 30. 38
— durch Bacillus nitroxus. 45
— — — sphaerosporus. 45

Denitrifikation, Verlauf des Prozesses. 63
Dextrose, Vergärung durch Bacillus bulgaricus. 171
Dianthus, Schädigung durch Sporotrichum anthophilum. 346
Diaspis rosae, Schädling von Rosa. 535
Diatraea saccharalis, Schädling vom Zuckerrohr. 523. 539
Dichroa cyanitis, Schädigung durch Endophyllum Dichroae. 347
Dictydiaethalium plumbeum, Vorkommen in Dakota. 343
Dictydium cancellatum, Vorkommen in Dakota. 343
Dicyandiamid, Wert als Dünger. 317
Diderma crustaceum, Vorkommen in Dakota. 343
Didymella sachalinensis n. sp., Schädling von Polygonum sachalinense. 340
Didymium squamulosum, Vorkommen in Dakota. 343
Diestramena unicolor, Vorkommen in Europa. 372
Dimerium elegans n. sp., Schädling von Pasania cuspidata. 511
Dioscorea Tokoro, Schädigung durch Urocystis Dioscoreae. 511
Diospyros Kaki, Schädigung durch Aleyrodes. 372
— Virginiana, Schädigung durch Aleyrodes. 372
Diphtheriebacillen, Virulenz in Milch. 304
Diplodia cacaoicola, Schädling vom Kakaobaum. 360
Dipteren, Gallenbildung an Hymenophyllum lineare var. brasiliense. 540
Discella populina n. sp., Schädling von Populus alba var. Bolleana. 340
Dixippus morosus, Parthenogenese. 532
Dothichiza exigua n. sp., Schädling von Pinus Strobus. 340
Dothiorella inversa, Beziehung zu Tympanis alnea. 511
— pseudodiblasta n. sp., Schädling von Scleria. 512
Düngung, Grün-, Stickstoffumsetzungen. 317
Dysdercus cingulatus, Schädling von Baumwollstauden. 370
— —, — — Bombax malabaricum. 370
— —, — — Hibiscus esculentus. 370
Eccilia flavida n. sp. 510
Eiche s. a. Quercus.
—, Mykorrhiza. 349
—, Schädigung durch Frost. 524
—, — — Tortrix viridana. 359
Eichenholz, Vorkommen von Helicobasidium inconspicuum. 510
Eichenmeltau, Ausbreitung in Europa. 531
—, Identität mit Microsphaera quercina. 357. 531
—, Immunität von Quercus coccifera gegen denselben. 358
—, — — — rubra gegen denselben 358
Eichenmeltau, Immunität von Quercus suber gegen denselben. 358
—, Schädling von Quercus cerris. 357
—, — — Quercus ilex 357
—, — — Quercus palustris 358
—, — — Quercus pedunculata. 357
—, — — Quercus pubescens. 358
—, — — Quercus sessiliflora. 357
—, — — Quercus Tozza. 357. 530
—, Vorkommen in Oberitalien. 530
—, systematische Stellung. 358
—, Vorkommen in Baden. 346
—, — — Württemberg. 357
Eier, Konservierung. 336
—, Vorkommen von Bakterien. 336
Eisensulphat, Bekämpfungsmittel gegen Mergelkrankheit der Lupinen. 388
Elaeagnus angustifolia, Wurzelknöllchen, Pilz in denselben. 515
Elaeocarpus longifolius, Schädigung durch Aecidium Elaeocarpi. 347
Eleutheranthera ruderalis, Schädigung durch Puccinia Eleutherantherae. 525
Eleurotheromycella mycophila n. gen. et n. sp., Vorkommen auf Polystictus versicolor. 510
Elfvingia. 512
Elymus robustus, Schädigung durch Claviceps purpurea. 529
Endomyces fibuliger, Cytologie. 298
— —, Sporenkeimung. 299
— —, Unterschied von E. decipiens. 299
— javanensis n. sp., Biologie. 301
— javanensis n. sp., Diagnose. 300
— — — —, Unterschied von E. fibuliger. 301
— Magnusii, Sexualität. 301
Endophyllum Dichroae n. sp., Schädling von Dichroa cyanitis. 347
Enzyme, Methodik der Erforschung. 283
—, Vorkommen in alten Samen. 285
Erdbeere, Schädigung durch Leptothyrium macrothecium. 356
—, — — Marssonia Potentillae. 339. 356
—, — — Zythia fragariae. 356
Erfrieren der Pflanzen, Untersuchung. 376
Eriobotrya japonica, Schädigung durch Coleopuccinia simplex. 526
Eriophyes altus, Gallenbildung an Ipomaea denticulata. 375
— aoecus, Gallenbildung an Evodia hortensis. 375
— cingulatus, Gallenbildung an Eugenia Wightiana. 375
— hibisci, Gallen, Vorkommen von Oxypleurites bisetus in denselben. 375
— —, Gallenbildung an Hibiscus rosa sinensis. 375
— hibiscitileus, Gallenbildung an Hibiscus tiliaceus. 375
— pauropus, Gallenbildung an Nephrolepis hirsutula. 375
— samoensis, Gallen, Vorkommen von Phyllocoptes Rechingeri in denselben. 375

Eriophyes samoensis, Gallenbildung an Spiraeanthemum samoense. 375
Erysiphe communis, Schädling von Bohnen. 520
— graminis Schädling von Hafer. 520
Euchlaena mexicana, Schädigung durch Ustilago Euchlaenae Arcangeli. 512
Eudemis botrana, Bekämpfung. 393
Eugenia caryophyllata, Schädigung durch Peronospora. 352
— Wightiana, Gallenbildung durch Eriophyes cingulatus. 375
Eumeta Hekmeyeri, Schädling von Cinnamonum Camphora. 357
Eutipella Cocos n. sp., Schädling von Cocos nucifera. 512
Evodia hortensis, Gallenbildung durch Eriophyes aoecus. 375
— meliaefolia, Schädigung durch Coleosporium Evodiae. 526
Excoecaria Agallocha, Schädigung durch Skierka Agallocha. 347
Exoascus deformans, Schädling vom Pfirsichbaum. 520
— Theobromae, Schädling vom Kakaobaum. 360
Exobasidium japonicum (?), Schädling von Rhododendron indicum. 356
— ledi, Schädling von Rhododendrum indicum. 339
— pentasporium (?), Schädling von Rhododendron indicum. 356
Exogone Kaiseriana n. gen. et n. sp. 346
Fabraea Rousseauana, Vorkommen. 339
Fagara Clava-Herculis, Schädigung durch Aleyrodes. 372
Fagus, Mykorrhizabildung durch Citromyces. 517
—, — — Penicillium geophilum. 517
—, Schädigung durch Botrytis latebricola. 511
— silvatica, Schädigung durch Cryptococcus fagi. 535
Farbstoffbildung durch Bakterien. 246. 403. 405
Feigenbaum s. a. Ficus.
—, Schädigung durch Colletotrichum Carica. 355
Festuca elatior, Schädigung durch Puccinia. 512
Fichtenin, Wert als Bekämpfungsmittel. 547
Ficus s. a. Feigenbaum.
—, Schädigung durch Aleyrodes. 372
— carica, Schädigung durch Peronospora. 511
Flachs, Schädigung durch Mamestra persicariae. 547
Fleisch, Konservierung durch Chemikalien. 386
Fomes. 512
Fonscolombea fraxini, Schädling von Fraxinus excelsior. 535
Formaldehyd, Assimilation durch Phanerogamen ohne Licht. 508
—, Zwischenprodukt der Kohlensäureassimilation. 509
—, — — Zymasegärung. 542
Fraxinus excelsior, Schädigung durch Fonscolombea fraxini. 535
Frost, Schädigung von Bäumen. 524
—, Wirkung auf Buchen, morphologische Untersuchung. 377
Fuligo ovata, Vorkommen in Dakota. 343
Fungizide, Wirkung auf Pilzsporen. 390
Fusarium, Schädling von Acacia. 512
—, — — Tomaten. 369
— Bartholomaei n. sp., Schädling von Sorghastrum. 510
— candidulum n. sp., Schädling von Cereus geometricans. 341
— decemcellulare n. sp., Schädling vom Kakaobaum. 522
— juglandinum n. sp., Schädling von Juglans nigra. 510
— oxysporum, Schädling von Kartoffeln. 367
— solani, Schädling von Kartoffeln. 367
— —, — — Tomaten. 693
Fusicladium Hariotianum n. sp., Schädling von Glyceria Borreri. 340
Fusicoccum, Vorkommen an Kokospalmen. 351
Futterrüben, Schädigung durch Cercospora beticola. 520
Gärung, alkoholische, Bedeutung der Milchsäure. 292
—, —, Vorkommen von Bernsteinsäure. 295
—, —, Wirkung von Humusstoffen. 296
—, Apfelwein-, mit Reinhefen. 500
—, Sauerteig-, durch Bacillus panificans. 502
—, —, — Saccharomyces minor. 502
—, Teig-, Hefevermehrung. 314
—, Zitronensäure-, durch Citromyces citricus. 302
—, Zymase-, Bildung von Formaldehyd. 542
Gärungsgewerbe, Betriebskontrolle. 287
Galium Mollugo, Schädigung durch Phacosphaeria punctiformis. 340
Gallen durch Aelchen an Ascobolus furfuraceus. 375
— — Dipteren an Hymenophyllum lineare var. brasiliense. 540
— — Eriophyes altus an Ipomaea denticulata. 375
— — — avecus an Evodia hortensis. 375
— — — cingulatus an Eugenia Wightiana 375
— — — hibisci an Hibiscus rosa sinensis. 375
— — — hibiscitileus an Hibiscus tiliaceus. 375
— — — pauropus an Nephrolepis hirsutula. 375

Gallen durch Eriophyes samoensis an Spiraeanthemum samoense. 375
— — Phylloxera vastatrix am Weinstock. 533
— — Physopus basicornis an Vicia cracca. 539
—, Vorkommen auf Bornholm. 539
Gardenia jasminoides, Schädigung durch Aleyrodes. 372
— Lanutoo, Schädigung durch Hyaloderma Gardeniae. 512
— —, — — Meliola. 512
Gemüse, Konservierung. 543
Gerste s. a. Hordeum vulgare.
—, Flugbrand, Bekämpfung mit Formalin. 392
—, — — — heißer Luft. 353. 545
—, — — — Heißwasser. 353. 392
—, — — — Kupfersulfat. 392
—, Schädigung durch Ustilago Jensenii. 520
Gervasia Rubi n. gen. et n. sp., Schädling von Rubus. 347
Gesetz gegen Einfuhr kranker Pflanzen. 518
Getreide, Brand, Bekämpfungsmethoden. 392
—, Schädigung durch Bakterien. 521
—, — — Brandpilze. 88. 353. 392. 512 520. 527. 545
—, — — Erysiphe graminis. 520
—, — — Rostpilze. 391. 512. 528
—, — — Scolecotrichum graminis. 102
—, — — Septoria triciti. 520
Gift, Bildung durch Penicillium glaucum. 334
Gips, Düngungsversuche. 505
Gliomastix chartarum, endogene Konidienbildung. 334
Gloeophyllum. 512
Gloeosporium ampelophagum, Schädling vom Weinstock. 520
— anceps n. sp., Schädling von Arbutus Unedo. 340
— coryli, Beziehung zu Gnomonia gnomon. 511
— Crini n. sp., Schädling von Crinum. 340
— Oleandri n. sp., Schädling von Nerium Oleander. 340
— ribis, Beziehung zu Pseudopeziza ribis. 511
— Vandopsidis n. sp., Schädling von Vandopsis. 513
— Vogelianum n. sp., Schädling von Coryllus Columna. 341
Glottula pankratii, Schädling von Clivea. 352
— —, — — Crinum. 352
— —, — — Haemanthus. 352
Glutaminsäure, Fäulnis. 285
—, Vorkommen im Käse. 502
Glyceria Borreri, Schädigung durch Fusicladium Hariotianum. 340
— nervata, Schädigung durch Claviceps purpurea. 529
Glyzerin, Bedeutung für die Salicylkonservierung. 387
Gnomonia gnomon, Beziehung zu Gloeosporium coryli. 511
— padicola, Beziehung zu Asteroma Padi. 351
Gnomoniella tubiformis, Beziehung zu Lepthothyrium alneum. 351
Gossyparia ulmi, Vorkommen auf Viscum album. 106
Gründüngung s. Düngung, Grün-.
Guignardia Bidwelli (?), Schädling vom Weinstock. 520
Gurken, Schädigung durch Bakterien. 521
Gymnosporangium clavariaeforme. 524
— juniperinum. 524
Gynopogon scandens, Schädigung durch Zukalia Gynopogonis. 513
Gyroceras divergens n. sp., Schädling von Celtis occidentalis. 510
Habenaria gracilis, Schädigung durch Aecidium alascanum. 526
Hadronema n. gen., Unterschied von Hadrotrichum. 511
— orbiculare n. gen. et n. sp., Schädling von Quercus glauca. 511
Haemanthus, Schädigung durch Glottula pankratii. 352
Hafer s. a. Avena sativa.
—, Flugbrand, Bekämpfung mit Kresolmitteln. 353
—, —, Wirkung der Temperatur während der Keimung. 353
—, Schädigung durch Erysiphe graminis. 520
—, — — Scolecotrichum graminis. 102
—, Wirkung von Äther auf das Wachstum. 277
Hainesia Palmarum n. sp., Schädling von Areca Rechingeriana. 513
Hamaspora gedeana n. sp., Schädling von Rubus alpestris. 347
Hansen, Emil Christian, Nachruf. 1
Harziella Castaneae, Schädling von Castanea vesca. 340
— —, Unterschied von H. capitata. 340
Hederich, Bekämpfung mit Kalkstickstoff. 546
—, — — Kupfervitriol. 546
Hefe, Preßsaft, Bedeutung des Ko-Enzyms für die Reaktivierung. 286
—, —, Wirkung von Antisepticis auf die Enzyme. 295
—, Struktur des Plasma. 407
—, Vermehrung bei der Teiggärung. 314
—, Vorkommen von Giftstoffen. 292
—, Wachstum der Zellen. 275
Hefegut, Säuerung. 302
Heißluft, Bekämpfungsmittel gegen Gerstenflugbrand. 353. 545
Heißwasser, Bekämpfungsmittel gegen Gerstenflugbrand. 353. 392
Helicobasidium, Schädling von Hevea brasiliensis. 363

Helicobasidium, inconspicuum n. sp., Vorkommen an Eichenholz. 510
Helminthosporium turcicum, Vorkommen an krankem Reis. 529
Helosciadium nodiflorum, Schädigung durch Cylindrosporium septatum forma Helosciadii. 340
Hemileia, Immunität von Coffea congensis gegen dieselbe. 360
—, — — — stenophylla gegen dieselbe. 360
Hemitrichia vesparia, Vorkommen in Dakota. 343
— clavata, Vorkommen in Dakota. 343
Hendersonia, Schädling vom Kakaobaum. 522
Hennings, Paul, Nachruf. 498
Heptapleurum Barteri, Schädigung durch Lasiodiplodia Thomasiana. 341
— —, — — Pestalozzia eusora. 341
Herpotrichia rhodospiloides n. sp., Vorkommen auf Populus deltoides. 510
Hevea, Vorkommen von Lasiodiplodia nigra am Baumstumpf. 523
— brasiliensis, Schädigung durch Helicobasidium. 363
— —, — — Hymenochaete. 522
— —, Wurzelkrankheit. 363
Hibiscus esculentus, Schädigung durch Dysdercus cingulatus. 370
— rosa sinensis, Gallenbildung durch Eriophyes hibisci. 375
— tiliaceus, Gallenbildung durch Eriophyes hibiscitileus. 375
Hieracium pilosella subsp. vulgare, Schädigung durch Puccinia hieracii. 525
Histidin, Vorkommen im Käse. 502
Hordeum vulgare s. a. Gerste.
— —, Schädigung durch Puccinia graminis. 512
— —, — — Tilletia Pančićii. 527
Houstonia caerulea, Schädigung durch Uromyces houstoniatus. 346
Humusstoffe, Wirkung auf alkoholische Gärung. 296
Hyaloderma Afzeliae n. sp., Schädling von Afzelia. 512
— Gardeniae n. sp., Schädling von Gardeniae Lanutoo. 512
— — — —, Unterschied von H. lateritium. 512
Hyalospora Cryptogrammes n. sp., Schädling von Cryptogramme japonica. 526
Hyazinthe, Schädigung durch Bakterien. 521
—, — — Pseudomonas Hyacinthi. 521
—, Vorkommen von Hypomyces Solani an Zwiebeln. 521
Hydnobolites javanicus n. sp. 510
Hydrangea hortensis, Schädigung durch Cercospora obtegens. 511
Hygrophorus. 512
Hylesinus micans, Entwicklungsgeschichte. 536
Hymenochaete, Schädling von Hevea brasiliensis. 522
— noxia, Schädling vom Kakaobaum. 522
Hymenogaster javanicus n. sp. 510
Hymenophyllum lineare var. brasiliense, Gallenbildung durch Dipteren. 540
Hymenula rhodella n. sp., Schädling von Pinus silvestris. 311
Hyponectria Cacti, Schädling von Opuntia. 345
— dakotensis n. sp., Schädling von Ambrosia trifida?. 345
Hypomyces Solani, Vorkommen an Hyazinthenzwiebeln. 521
Ilex, Schädigung durch Seynesia ilicina. 511
Illosporium Diedickeanum n. sp., Schädling von Acer Pseudoplatanus. 341
Imperata cylindrica, Schädigung durch Sphacelotheca Schweinfurthiana. 340
Infektionsversuche an höheren Pflanzen, Methodik. 426
Ipomaea, Schädigung durch Cystopus ipomaeae panduranae. 520
Ipomaea denticulata, Gallenbildung durch Eriophyes altus. 375
Iris, Schädigung durch Bacillus omnivorus. 521
—, — — Pseudomonas fluorescens-exitiosus. 521
—, — — — Iridis. 521
Isaria lecaniicola n. sp., Vorkommen auf Lecanium persicae. 511
Isiol, Wert als Bekämpfungsmittel. 547
Juglans nigra, Schädigung durch Fusarium juglandinum. 510
Juniperus sibirica, Schädigung durch Roestelia penicillata. 349
Käse, Bereitung mit Reinkulturen. 304
—, Farbenfehler in Emmentaler durch Bakterien. 9
—, Konservierung. 543
—, Lochbildung, fehlerhafte. 24
—, Reifung, Beteiligung von Fäulnisbakterien. 492
—, — mit Penicillium camemberti. 501
—, —, Versuche mit Reinkulturen. 495
—, Rostfleckigkeit. 402
—, Vorkommen von Bakterien. 8. 22. 307. 308. 401. 492. 501
—, — — Milben. 310
Kaffeebaum s. a. Coffea.
—, Schädigung durch Nectria Behuiskiana. 523
—, — — Pellicularia koleroja. 523
—, — — Rostrella coffeae. 523
—, — — Stilbella. 523
—, — — Stilbum flavidum. 504
Kakao, Fermentation, Vorschrift. 314
—, —, Zweck derselben. 313
Kakaobaum, Schädigung durch Calonectria flavida. 360. 522
—, — — Corticium lilaceofuscum. 360
—, — — Diplodia cacaoicola. 360

Kakaobaum, Schädigung durch Exoascus Theobromae. 360
—, — — Fusarium decemcellulare. 522
—, — — Hendersonia. 522
—, — — Hymenochaete noxia. 522
—, — — Lasiodiplodia. 360
—, — — Marasmius equicrinus. 360
—, — — Nectria Bainii. 360
—, — — — Theobromae. 360. 522
—, — — Pestalozzia. 522
—, — — Phytophthora omnivora. 360
—, Wurzelkrankheit. 360
Kalkstickstoff, Bekämpfungsmittel gegen Hederich. 546
—, Schädigung vom Mandelbaum. 509
—, — von Oliven. 509
—, Umsetzung im Boden. 503
—, Wert als Dünger. 317
Karbolineum, Bekämpfungsmittel gegen Blutlaus. 390
—, Wert als Bekämpfungsmittel. 543. 547
Kartoffel, Bakterienringkrankheit. 364 521
—, Blattrollkrankheit. 364. 366. 520
—, —, Wirkung des Bodens. 366
—, —, Bedeutung der Witterung. 520
—, Schädigung durch Chrysophlyctis endobiotica. 440
—, — — Fusarium oxysporum. 367
—, — — — Fusarium Solani. 367
—, — — Phytophthora infestans. 365
—, — — Verticillium alboatrum 367
—, Schwarzbeinigkeit. 521
Kartoffelkrebs, Bedeutung. 440
—, Vorkommen in Schlesien. 367
Kartoffeln, Schädigung durch Bakterien. 521
Kerria japonica, Schädigung durch Septoria Kerriae. 511
Kickxia, Schädigung durch Limicolaria aurora. 523
Kiefer, Schädigung durch Frost. 524
Kirschbaum, Schädigung durch Puccinia pruni. 520
Klee, Schädigung durch Kalkmangel. 329
Kleekrebs, Bekämpfung. 530
Knöllchenbakterien s. Bakterien, Knöllchen-.
Koeleria cristata, Schädigung durch Claviceps purpurea. 529
Ko-Enzym, Bedeutung für die Reaktivierung von ausgegorenem Preßsaft. 286
Körnchenbacillus, Untersuchung. 165
—, Unterschied von Bacillus bulgaricus. 163
Kohlrüben, Schädigung durch Cercospora Bloxami. 520
Kokospalme s. a. Cocos nucifera.
—, Schädigung durch Botryodiplodia. 351
—, — — Oryctes rhinoceros. 389
—, — — Rhynchophorus signaticollis. 389
—, Stammkrankheit. 352
—, Stickstoffzufuhr durch Leguminosenanbau. 505
Kokospalme, Vorkommen von Fusicoccum. 351
Kolabaum, Schädigung durch Phosphorus gabonator. 523
Kolloide, Bedeutung für Gestaltung der Kulturböden. 316
Konservierung von Nahrungsmitteln durch Chemikalien. 383
Kresol, Bekämpfungsmittel gegen Haferflugbrand. 353
Kupferoxychlorid, Bekämpfungsmittel gegen Plasmopara. 546
Kupfervitriol, Bekämpfungsmittel gegen Hederich. 546
Lab, Hemmung durch Kohle. 313
—, — — Talcum. 313
—, Prüfung von Präparaten. 313
Laccase, Stickstoffgehalt, Nachweis. 499
Lactarius spinolusus, Vorkommen, 338
„Lactocolle“, Weinklärung. 500
Lactose, Vergärung durch Bacillus bulgaricus. 171
Lärche, Schädigung durch Frost. 524
Laschia. 512
Lasiodiplodia, Schädling vom Kakaobaum. 360
— nigra, Vorkommen an Heveaholz. 523
— Thomasiana n. sp., Schädling von Heptapleurum Barteri. 341
Lauril-Harzölseife, Wert als Bekämpfungsmittel. 547
Laurocerasus, Schädigung durch Aleyrodes. 372
Lecanium corni, Schädling von Sarothamnus scoparius. 535
— persicae, Schädling von Corylus avellana 511
— —, Vorkommen von Isaria lecaniicola. 511
Lepidosaphes Newsteadi, Schädling von Pinus silvestris. 535
— pomorum, Schädling von Sorbus aucuparia. 535
Lepiota. 512
— Boudieri, Unterschied von L. lutea. 350
Leptomitus lacteus, Vorkommen in verunreinigtem Flußwasser. 499
Leptothrix Meyeri n. sp., Vorkommen in eisenhaltigem Wasser. 311
Leptothyrium alneum, Beziehung zu Gnomoniella tubiformis. 351
— —, Schädling von Alnus glutinosa. 351
— macrothecium, Schädling von Erdbeeren. 356
Leucin, Vorkommen im Käse. 502
Leucocytengehalt von Milch. 469
Leucodiaspis Sulci, Schädling von Pinus silvestris. 535
Levisticum officinale, Schädigung durch Pseudomonas Levistici. 260
Liceopsis lobata n. gen., Vorkommen in Portugal. 343
Ligustrum, Schädigung durch Aleyrodes. 372

Limicolaria aurora, Schädling von Kickxia. 523
Lina populi, Schädling von Salix fragilis. 359
Lolium perenne, Schädigung durch Puccinia. 512
Lonicera, Schädigung durch Aleyrodes. 372
Lupinen, Mergelkrankheit, Bekämpfung mit Eisensulphat. 388
Luzerne s. a. Medicago sativa.
—, Schädigung durch Cuscuta. 520
—, — — Peronospora trifoliorum. 520
—, — — Pseudopeziza medicaginis. 520
—, — — Uromyces striatus. 520
Lycogala epidendrum, Vorkommen in Dakota. 343
— Torrendii n. sp., Vorkommen in Portugal. 343
Lysin, Vorkommen im Käse. 502
Lysol, Bekämpfungsmittel gegen Obstbaumschädlinge. 390
—, — — Phyllocoptes. 532
Magnolia, Schädigung durch Mycoidea parasitica. 520
Mais s. a. Zea Mays.
—, Rissigwerden der Samen, Ursache. 528
—, Schädigung durch Bakterien. 521
—, — — Puccinia sorghi. 520
—, — — Ustilago maydis. 520
Maische, Apparat zur Bewegung. 297
Malva parviflora, Schädigung durch Puccinia malvacearum. 520
— silvestris, Schädigung durch Puccinia Malvacearum. 512
Mamestra persicariae, Schädling vom Flachs. 547
— —, natürliche Feinde. 547
— —, Schädling vom Tabak. 547
Mandelbaum, Schädigung durch Kalkstickstoff. 509
Marasmius equicrinus, Schädling vom Kakaobaum. 360
— Sacchari, Schädling von Saccharum officinarum. 352. 505
Markasol, Wert als Bekämpfungsmittel. 547
Marssonia Matteiana n. sp., Schädling von Quercus Robur. 340
— Potentillae, Schädling von Erdbeeren. 339. 356
Maulbeerbaum, Schädigung durch Bacillus Moro carneus. 522
—, — — Bacterium Mori. 522
Medicago sativa s. a. Luzerne.
— —, Schädigung durch Uromyces striatus. 512
Mehl, Bleichen mit Stickoxyden. 332
—, Fälschung, Erkennung durch serumdiagnostische Methode. 381
Melampsora Allii-Salicis albae, Schädling von Allium ursinum. 437
— — —, — — Salix alba. 437
— populina, Schädling von Populus. 520
Melandryum album, Schädigung durch Ustilago antherarum. 364
Melia Azedarach, Schädigung durch Aleyrodes. 372
Meliola, Schädling von Citrus. 372
—, — — Gardenia Lanutoo. 512
Merodon equestris, Schädling von Amaryllis vittata. 535
Merulius domesticus, Unterschied von Coniophora cerebella. 528
— —, — — Merulius silvester. 528
Michelia, Schädigung durch Aleyrodes. 372
Micrococcus chromoflavus, Vorkommen im Käse. 401
— denitrificans, Stickoxydulbildung. 53
— tritici, Schädling von Weizen. 521
Microcera, natürlicher Feind von Aleyrodesarten. 371
Microsphaera quercina, Identität mit Eichenmeltau. 357. 531
Mikrophotographie, Anleitung. 379
Mikroskopie, Anleitung. 379
Milben, Schädlinge vom Weinstock. 531
—, Vorkommen auf Käse. 310
Milch, Vorkommen von Bakterien. 161
304. 311. 420. 465
Milchsäure, Bedeutung bei alkoholischer Gärung. 292
—, Bildung durch Bacillus bulgaricus. 172
—, Wirkung auf die Darmfäulnis. 312
Milchsäurebakterien s. Bakterien, Milchsäure-.
Mist, Stall-, Ersatz durch Kunstdünger. 318
—, —, Zersetzung. 503
Modiola, Schädigung durch Aecidium Modiolae. 512
— caroliniana, Schädigung durch Puccinia malvacearum. 520
Möhren, Schädigung durch Bacillus carotovorus. 521
—, — — Bakterien. 521
Monascus, systematische Stellung. 514
— purpureus, Entwicklungsgeschichte. 515
Monilia candida, endogene Konidienbildung. 334
Monstrositäten. 374. 542
Mucor dimorphosporus n. sp. 345
— genevensis n. sp. 345
— Jansseni n. sp. 345
— lamprosporus n. sp. 345
— lausannensis n. sp. 345
— pirelloides n. sp. 345
— spinescens n. sp. 345
Mucorineen, Systematik. 344
Mucuna, Schädigung durch Sphaerophragmium Muconae. 347
Mycoidea parasitica (?), Schädling von Magnolia. 520
Mycosphaerella hieracii, Beziehung zu Ramularia hieracii. 511
Mykorrhiza, Bedeutung. 516
—, Wesen und Bedeutung. 517
Myrica gale, Mykorrhizabildung durch Actinomyces. 517
— —, Schädigung durch Cytospora myricae-gales. 511

Myrica gale, Schädigung durch Cytospora sororia. 511
Myrothecium advena n. sp., Schädling von Coffea arabica. 340
Myxobakterien, Systematik. 226
Myxocyclus polycystis, Schädling von Betula alba. 340
Myxosporium depressum n. sp., Schädling von Syringa vulgaris. 341
— Tremulae, Schädling von Populus tremula. 341
Nährlösung, von der Cronesche, Wert derselben. 550
Naemacyclus penegalensis n. sp., Schädling von Arctostaphylus uva ursi. 511
Nectria Bainii, Schädling vom Kakaobaum. 360
— Behuiskiana, Schädling vom Kaffeebaum. 523
— punicea, Beziehung zu Tubercularia vulgaris. 511
— semenicola n. sp., Schädling von Spathyema foetida. 345
— sinopica, Beziehung zu Sphaeronaemella Mouglotii. 511
— Theobromae, Schädling vom Kakaobaum. 360. 522
Neoskofitzia termitum n. sp. 510
Nephrolepis hirsutula, Gallenbildung durch Eriophyes pauropus. 375
Nerium, Schädigung durch Aleyrodes. 372
— Oleander, Schädigung durch Gloesporium Oleandri. 340
Nicotine titrée, Wert als Bekämpfungsmittel. 547
Nitrate, Anhäufung im Gewebe phanerogamer Parasiten. 370
Nitrifikation, Untersuchung. 64
Nodofolium ferrugineum n. sp., Vorkommen in eisenhaltigem Wasser. 311
Nonne, Schlafsucht. 373
Obstbäume, Schädigung durch Aphis persicae. 520
—, — — Apiosporium salicinum. 520
—, — — Bacillus amylovorus. 521
—, — — Bacterium pruni. 355
—, — — Clostridium persicae tuberculosis. 521
—, — — Exoascus deformans. 520
—, — — Phoma persicifolia. 355
—, — — Phyllosticta solitaria. 354
—, — — Podosphaera leucotricha. 356
—, — — Protomyces (?) persicifilus. 355
—, — — Psylla pirisuga. 535
—, — — Puccinia pruni. 520
—, — — Rhabdospora persicifila. 355
—, — — Schizoneura lanigera. 520
—, — — Sphaeropsis malorum. 354
—, Winterbehandlung mit Lysol. 390
Obstbau, Schädigung durch Vögel in Californien. 373
Oedocephalum glomerulosum, Zusammenhang mit Pyronema omphalodes. 82
Oelbaumfliege, Bekämpfung. 539
Oenophtira pilleriana, Parerynnia vibrissata, natürlicher Feind derselben. 395
Oidium, Schädling von Begonia. 511
—, — — Datura Stramonium. 511
—, — — Pisum sativum. 511
—, — — Xanthicum italicum. 511
—, — — Xanthium spinosum. 511
—, Vorkommen auf gekochter Ananas. 335
— quercinum, Schädling von Quercus Robur. 340
— —, Unterschied von Phyllactinia suffulta. 531
— — var. gemmiforum n. var., Identität mit Eichenmeltau. 358
— Tuckeri, Schädling vom Weinstock. 520
Olea europaea, Schädigung durch Tinea oleaella. 360
Oligonema flavidum, Vorkommen in Dakota. 343
Oliven, Schädigung durch Kalkstickstoff. 509
—, — — Rußtau. 520
Omphalodes verna, Schädigung durch Sclerotinia Libertiana. 267
Ophiusa melicerte, Schädling von Ricinus communis. 371
Opuntia, Schädigung durch Hyponectria Cacti. 345
Orchideen, Schädigung durch Castnia licus. 538
Orthezia urticae, Schädling von Urtica dioica. 535
Oryctes rhinoceros, Schädling von Kokospalmen. 389
Oxydase, Stickstoffgehalt, Nachweis. 499
Oxypleurites bisetus, Vorkommen in Gallen von Eriophyes hibisci. 375
Paederia tomentosa, Schädigung durch Coleosporium Paederiae. 526
Panicum virgatum, Vorkommen von Botrytis uredinicola. 510
Pankreas, Verseifung von Fetten. 284
Paramignya Blumei, Schädigung durch Aecidium Paramignyae. 347
Paraplectrum foetidum lactis, Vorkommen im Käse. 493
Paratropia rotundiflora, Schädigung durch Phyllosticta Paratropiae. 340
Parerynnia vibrissata, Chalcis minuta natürlicher Feind derselben. 395
— —, natürlicher Feind von Oenophtira pilleriana. 395
— —, Pteromalus, natürlicher Feind derselben. 395
Pasania cuspidata, Schädigung durch Dimerium elegans. 511
Paspalum dilatatum var. sacchariferum, Schädigung durch Ustilago. 512
Passiflora incarnata, Schädigung durch Cercospora biformis. 510
Patrinia palmata, Schädigung durch Puccinia melanoplaca. 511

Payena Junghuniana, Schädigung durch Uromyces Payenae. 347
— Suringariana, Schädigung durch Uromyces Payenae. 347
Pellicularia koleroja, Bekämpfung. 523
— —, Schädling vom Kaffeebaum. 523
Pemphigus bursarius (?), Schädling von Populus. 520
Penicillium camemberti, Reifung von Käse. 501
— crustaceum, endogene Konidienbildung. 334
— geophilum, Mykorrhizabildung an Fagus. 517
— glaucum, Bildung giftiger Stoffwechselprodukte. 334
Periconia pycnospora. 339
Peridermium Cornui. 524
— Stahlii. 524
Peronospora, Schädling von Eugenia caryophyllata. 352
—, — — Ficus carica. 511
— chrysoplenis, Vorkommen. 339
— conglomerata, Vorkommen. 339
— effusa, Schädling von Spinat. 520
— parasitica, Schädling von Brassica. 520
— Spinaciae, Identität mit P. effusa. 530
— trifoliorum, Schädling von Luzerne. 520
Pestalozzia, Schädling vom Kakaobaum. 522
— discolor, Schädling von Camellia japonica. 512
— eusora n. sp., Schädling von Heptapleurum Barteri. 341
— funerea. 341
— uvicola, Vorkommen in Amerika. 364
Peucedanum Oreoselinum, Schädigung durch Septoria myriotheca. 340
Pfirsichbaum, Schädigung durch Aphis persicae. 520
—, — — Apiosporium salicinum. 520
—, — — Bacterium pruni. 355
—, — — Clostridium persicae tuberculosis. 521
—, — — Exoascus deformans. 520
—, — — Phoma persicifolia. 355
—, — — Protomyces (?) persicifilus. 355
—, — — Puccinia pruni. 520
—, — — Rhabdospora persicifila. 355
Pflanzenkrankheiten, allgemeine Bekämpfungsregeln. 389
Pflanzenpathologie, Grundriß. 341
Pflanzenkrankheiten, Handbuch. 518
Pflaumenbaum, Schädigung durch Bacterium pruni. 355
Phacidium multivalve, Beziehung zu Centospora phacidioides. 511
Phalaris arundinacea, Schädigung durch Claviceps purpurea. 529
Phaseolus s. a. Bohnen.
—, Schädigung durch Bacillus Phaseoli. 521
— vulgaris nanus, Schädigung durch Alternaria Brassicae f. Phaseoli. 529
Phenol, Wirkung auf Hefepreßsaft. 295
Phlebophora rugulosa, Zugehörigkeit zu Mycena. 510
Phleum pratense, Schädigung durch Claviceps purpurea. 529
— —, — — Puccinia Phlei-pratensis. 353
Phoma Betae, Schädling von Zuckerrüben. 367
— Bonanseana n. sp., Schädling von Cereus geometricans. 341
— frigida n. sp., Schädling von Populus Tremula. 340
— legriminum, Schädling von Acacia. 512
— persicifolia n. sp., Schädling vom Pfirsichbaum. 355
Phosphate, Aufschließung durch Bodenorganismen. 409
—, Düngungsversuche. 319
Phosphorus gabonator, Schädling vom Kolabaum. 523
Phragmidium Englerianum n. sp., Schädling von Rubus Volkensii. 525
— subcorticium, Schädling von Rosa. 512. 520
Phragmotrichum Flageoletianum n. sp., Schädling von Carpinus Betulus. 340
Phratora vulgatissima, Schädling von Salix viminalis. 359
Phyllachora Eleusinis, Schädling von Chloris distichophilla. 511
Phyllactinia suffulta, Unterschied von Oidium quercinum. 531
Phyllochera Randiae subsp. acculeatae, Schädling von Randia acculeata. 512
Phyllocoptes, Bekämpfung mit Lysol. 532
—, Schädling vom Weinstock. 531
— Rechingeri, Vorkommen in Gallen von Eriophyes samoensis. 375
Phyllosticta Crini n. sp., Schädling von Crinum. 340
— Paratropiae n. sp., Schädling von Paratropia rotundifolia. 340
— solitaria, Schädling vom Apfelbaum. 354
Phylloxera, Biologie. 533
— Quercus, Entwicklungsgeschichte. 532
— —, Schädling von Quercus coccifera. 532
— —, Schädling von Quercus ilex. 532
— —, Schädling von Quercus pedunculata. 532
— —, Schädling von Quercus robur. 532
— —, Schädling von Quercus sessiliflora. 532
— vastatrix s. a. Reblaus.
— vastatrix, Biologie. 533
— —, Blattgallenbildung an amerikanischen Reben. 534
— —, Gallenbildung durch Wurzelläuse an Blättern. 533
— —, Schädling von Riparia. 534
— —, Schädling von Rupestris metallica. 534
— —, Wurzellaus, Übergang zur Gallenlaus. 533

Physarella oblonga var. lusitanica n. var., Vorkommen in Portugal. 343
Physarum contextum, Vorkommen in Dakota. 343
Physiologie, allgemeine. 274
—, Methodik. 380
Physopus basicornis, Gallenbildung an Vicia cracca. 539
Phytomyxa leguminosarum. 514
Phytophthora infestans, Schädling von Kartoffeln. 365
— —, Überwinterung. 365
— omnivora, Schädling von Calceolaria rugosa. 265
— —, — vom Kakaobaum. 360
Phytophtus vitis, Schädling vom Weinstock. 520
Picea pungens, Schädigung durch Frost. 524
Pichia membranaefaciens, Wirkung des osmotischen Druckes auf das Wachstum. 380
Pinus, Schädigung durch Volutella Jaapii. 511
— austriaca, Schädigung durch Aspidiotus abietis. 535
— silvestris, Schädigung durch Hymenula rhodella. 311
— —, — — Lepidosaphes Newsteadi. 535
— —, — — Leucodiaspis Sulci. 535
— Strobus, Schädigung durch Dothichiza exigua. 340
Pilze, Nomenklatur. 339
—, Parasitismus. 338
—, Pathogenität für Tiere. 335
Piricularia oryzae, Vorkommen an krankem Reis. 529
Pirus, Schädigung durch Aleyrodes. 372
Pisum sativum, Schädigung durch Oidium. 511
Placosphaeria punctiformis, Schädling von Galium Mollugo. 340
Plasmodiophora Alni. 514
— Brassicae. 514
— Elaeagni. 514
Plasmopara, Bekämpfung mit Bordeauxbrühe. 545
—, — — Kupferoxychlorid. 545
— obdurans, Vorkommen 339
— viticola, Bekämpfung. 392
— —, Biologie. 363
— —, Schädling vom Weinstock. 363 392. 520
Pleurotus. 512
Pluteus. 512
Poa, Schädigung durch Claviceps purpurea. 529
— annua, Schädigung durch Puccinia Poarum. 512
— nemoralis var. umbrosa, Schädigung durch Puccinia cognatella. 525
Podosphaera leucotricha, Schädling vom Apfelbaum. 356
— —, — — Birnbaum. 356
Pogonomyces. 512
Pollinia quadrinervis, Schädigung durch Puccinia Polliniae quadrinervis. 526
Polygala, Schädigung durch Ramularia Heimerliana. 527
Polygonum Fagopyrum, Wirkung von Bodenbakterien auf dasselbe. 505
— sachalinense, Schädigung durch Didymella sachalinensis. 340
Polyporus cadaverinus, Identität mit Fistulina hepatica. 510
— lucidus var. montanum. 350
— — — Tsugae, Schädling von Tsuga canadensis. 350
— Rostkovii, abnormes Wachstum. 542
Polystictus occidentalis, Vorkommen an Bambusa. 353
— versicolor, Vorkommen von Eleurotheromycella mycophila. 510
Populus, Schädigung durch Melampsora populina. 520
—, — — Pemphigus bursarius. 520
—, Vorkommen von Salikase. 285
— alba var. Bolleana, Schädigung durch Discella populina. 340
— deltoides, Vorkommen von Herpotrichia rhodospiloides. 510
— tremula, Schädigung durch Chionaspis salicis. 535
— —, — — Coniothecium radians. 341
— —, — — Myxosporium Tremulae. 341
— —, — — Phoma frigida. 340
Prädisposition für Pilzkrankheiten. 504
Prenanthes altissima, Schädigung durch Cercospora brunnea. 510
Primula minima, Schädigung durch Uromyces apiosporus. 340
— Wulfeniana, Schädigung durch Uromyces ovirensis. 511
Protocaseose, Vorkommen im Käse. 502
Protomyces (?) persicifilus n. sp., Schädling vom Pfirsichbaum. 355
Protoplasma, Permeabilität der Haut. 277
—, Wirkung von Aluminiumsalzen. 276
Prunus Padus, Schädigung durch Asteroma Padi. 350
Pseudomonas, Stickstoffbindung. 271
— campestris, Schädling von Brassica. 521
— Cowardi, Farbstoffbildung. 405
— —, Kultur. 402
— Levistici n. sp., Schädling von Levisticum officinale. 260
— Cowardi, Vorkommen im Käse. 401
— destructor, Schädling von Brassica rapa. 521
— fluorescens-exitiosus, Schädling von Iris. 521
— Hyacinthi, Schädling von Hyazinthen. 521
— Iridis, Schädling von Iris. 521
— Stewarti, Schädling von Zea Mays. 521
— Syringae, Schädling von Syringa. 522

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Pseudopatellina conigena n. gen. 510
— — — —, Identität mit Dacrymyces conigenus. 510
Pseudoperonospora cubensis, Schädling von Cucumis sativus. 519
— —, — — Cucurbita Pepo. 519
Pseudopeziza medicaginis, Schädling von Luzerne. 520
— ribis, Beziehung zu Gloeosporium ribis. 511
Pseudotsuga taxifolia, Schädigung durch Frost. 524
Psylla pirisuga, Biologie. 535
— —, Schädling vom Birnbaum. 535
Pteromalus, natürlicher Feind von Parerynnia vibrissata. 395
Puccinia, Schädling von Cynosurus cristatus. 512
—, — — Festuca elatior. 512
—, — — Lolium perenne. 512
— Allii, Infektionsversuche. 348
— Andropogonis-macranthi n. sp., Schädling von Andropogon macranthus genuinus 529
— chrysanthemi, Schädling von Chrysanthemum. 520
— cognatella n. sp., Schädling von Poa nemoralis var. umbrosa. 525
— compositarum, Schädling von Chrysanthemum indicum. 512
Puccinia coronata, Spezialisierung. 524
— coronifera, Schädling von Avena sativa. 512
— —, Spezialisierung. 524
— dispersa, Schädling von Triticum vulgare. 512
— Eleutherantherae n. sp., Schädling von Eleutheranthera ruderalis. 525
— graminis, Schädling von Hordeum vulgare. 512
— hieracii, Schädling von Hieracium pilosella subsp. vulgare. 525
— Isiacae, Schädling von Biscutella. 348
— —, — — Bupleurum rotundifolium. 348
— —, — — Thlaspi ceratocarpum. 348
— malvacearum, Schädling von Althaea rosea. 520
— —, — — Malva parviflora. 520
— —, — — Malva silvestris. 512
— —, — — Modiola caroliniana. 520
— Maydis, Schädling von Zea Mays. 512
— melanoplaca n. sp., Schädling von Patrinia palmata. 511
— Miyakei n. sp., Schädling von Carex siderosticta. 511
— Phlei-pratensis, Schädling von Phleum pratense. 353
— Poarum, Schädling von Poa annua. 512
— Polliniae quadrinervis n. sp., Schädling von Pollinia quadrinervis. 526
— Porri, Infektionsversuche. 348
— pruni, Schädling vom Pfirsichbaum. 520
— —, — — Kirschbaum. 520
Puccinia Puspa n. sp., Schädling von Acronodia punctata. 347
— Sesleriae. 524
— Sonchi, Infektionsversuche. 348
— sorghi, Schädling vom Mais. 520
— Toddaleae n. sp., Schädling von Toddalea aculeata. 347
— Veratri, Infektionsversuche. 347
Punica, Schädigung durch Aleyrodes. 372
Pycnophorus. 512
Pyronema omphalodes, Zusammenhang mit Oedocephalum glomerulosum. 82
Pythium de Baryanum, Schädling von Zuckerrüben. 367
Quercus s. a. Eiche.
—, Schädigung durch Aleyrodes. 372
— thalassica, Schädigung durch Uleomyces decipiens. 511
— cerris, Schädigung durch Eichenmeltau. 357. 546
— coccifera, Immunität gegen Eichenmeltau. 358
— —, Schädigung durch Phylloxera Quercus. 532
— glauca, Schädigung durch Hadronema orbiculare. 511
— ilex, Schädigung durch Eichenmeltau. 357
— —, — — Phylloxera Quercus. 532
— —, — — Septoria dryophila. 340
— palustris, Schädigung durch Eichenmeltau. 358
— pedunculata, Schädigung durch Eichenmeltau. 357. 546
— —, — — Phylloxera Quercus. 532
— pubescens, Schädigung durch Eichenmeltau. 358
— robur, Schädigung durch Asterolecanium quercicola. 535
— —, — — Marsonia Matteiana. 340
— —, — — Oidium quercinum. 340
— —, — — Phylloxera Quercus. 532
— rubra, Immunität gegen Eichenmeltau. 358
— sessiliflora, Schädigung durch Eichenmeltau. 357. 546
— —, — — Phylloxera Quercus. 532
— suber, Immunität gegen Eichenmeltau. 358
— Tozza, Schädigung durch Eichenmeltau. 357. 530
Quittenbaum, Schädigung durch Bacillus amylovorus. 521
Rahm, Reifung mit Reinkulturen. 310
Ramularia asteris-tripolii n. sp., Schädling von Aster tripolium. 511
— Heimerliana n. sp., Schädling von Polygala. 527
— hieracii, Beziehung zu Mycosphaerella hieracii. 511
Randia acculeata, Schädigung durch Phyllochera Randiae subsp. acculeatae. 512
Ranunculus alpestris, Schädigung durch Uromyces Dactylidis. 431

Ranunculus balbosus, Schädigung durch Uromyces Dactylidis. 431
— lanuginosus, Schädigung durch Uromyces Dactylidis. 431
— platanifolius, Schädigung durch Uromyces Dactylidis. 431
— polyanthemus, Schädigung durch Uromyces Dactylidis. 431
— repens, Schädigung durch Uromyces Dactylidis. 431
Raphanus sativus, Schädigung durch Albugo. 511
Raupenkalender. 371
Ravenelia Hieronymi, Schädling von Acacia. 512
Reblaus s. a. Phylloxera vastatrix.
Reblaus, Bekämpfung. 549
—, Verbreitung in der Schweiz. 364
Reflorit, Wert als Bekämpfungsmittel. 391
Reis, Brusonekrankheit, Ursache. 529
—, Vorkommen von Helminthosporium turcicum. 529
—, — — Piricularia oryzae. 529
Rhabdospora persicifila n. sp., Schädling vom Pfirsichbaum. 355
Rhein, biologische Untersuchung. 280
Rhizoctonia, Schädling von Tomaten. 369
Rhododendrum indicum, Schädigung durch Exobasidium japonicum. 356
— —, — — Exobasidium ledi. 339
— —, — — Exobasidium pentasporium. 356
Rhynchophorus signaticollis, Schädling von Kokospalmen. 389
Ribes grossularia, Schädigung durch Sphaerotheca mors uvae. 520
Ricinus communis, Schädigung durch Ophiusa melicerte. 371
Riparia, Schädigung durch Phylloxera vastatrix. 534
— Rupestris, Schädigung durch ungünstige Witterung. 364
Rizin, Nachweis in Futtermitteln. 335
Roestelia fimbriata, Identität mit R. penicillata. 349
— penicillata, Identität mit R. fimbriata. 348
— —, Schädling von Juniperus sibirica. 349
Rosa, Schädigung durch Dasyscypha rosae. 511
—, — — Diaspis rosae. 535
—, — — Phragmidium subcorticium. 512. 520
—, — — Sphaerotheca pannosa. 520
Rost, Immunität von Getreidesorten gegen denselben. 391. 528
Rostpilze, Infektionsversuche. 430. 436
Rostrella coffeae, Schädling vom Kaffeebaum. 523
Rotklee, Schädigung durch Cuscuta racemosa. 370
Rubus, Schädigung durch Aleyrodes. 372
—, — — Gervasia Rubi. 347
Rubus alpestris, Schädigung durch Hamaspora gedeana. 347
— Volkensii, Schädigung durch Phragmidium Englerianum. 525
Rupestris metallica, Schädigung durch Phylloxera vastatrix, 534
Rußtau, Schädling von Camellia. 520
—, — — Chrysanthemum. 520
—, — — Oliven. 520
—, — — Zitronen. 520
Russula emetica, Mykorrhyzabildung an Eichen. 349
Sabal, Schädigung durch Aleyrodes. 372
Saccharomyces minor, Sauerteiggärung. 502
Saccharomycopsis capsularis, Cytologie. 298
Saccharum officinarum s. a. Zuckerrohr.
Saccharum officinarum, Schädigung durch Marasmius Sacchari. 352
Salicin, Spaltung durch Salikase. 285
Salicylsäure, Konservierung, Bedeutung des Glyzerins. 387
—, Wert derselben als Konservierungsmittel. 385
—, Wirkung auf Hefepreßsaft. 295
Salikase, Vorkommen in Salix und Populus. 285
Salix, Vorkommen von Salikase. 285
— alba, Schädigung durch Melampsora Allii-Salicis albae. 437
— fragilis, Schädigung durch Lina populi. 359
— viminalis, Schädigung durch Phratora vulgatissima. 359
Salpeterstickstoff, Wirkung auf Herz- und Trockenfäule der Rüben. 368
Sarothamnus scoparius, Schädigung durch Lecanium corni. 535
Saxifraga, Schädigung durch Caeoma Saxifragae. 438
Schizoneura lanigera, Schädling vom Apfelbaum. 520
Schizophyllum. 512
Schwalbe, Nutzen. 547
Schwanniomyces occidentalis n. gen. et n. sp., Diagnose. 294
Schwarzbeinigkeit der Kartoffel. 521
Schwefelkohlenstoff, Wirkung auf Stickstoffumsetzung im Boden. 321
Scleria, Schädigung durch Dothiorella pseudodiblasta. 512
Sclerotinia ecchinophila, Schädling von Castanea vesca. 546
— Libertiana, Schädling von Bohnen. 520
— —, — — Omphalodes verna. 267
Scolecotrichum graminis, Schädling vom Hafer. 102
Scopolia japonica, Schädigung durch Aecidium Pascheri. 525
Secale cereale, Schädigung durch Claviceps purpurea. 529
Selbstentzündung geölter Substanzen. 333
Sellerie, Schädigung durch Bakterien. 521

Semele androgyna, Schädigung durch Ascochyta Semeles. 340
Septocylindrium bellocense n. sp., Schädling von Verbascum nigrum. 340
Septoria Azaleae, Schädling von Azaleen. 356
— Septoria Cercidis, Schädling von Cercis Siliquastrum. 340
— Cirrosae n. sp., Schädling von Clematis cirrosa. 340
— dryophila n. sp., Schädling von Quercus Ilex. 340
— Kerriae n. sp., Schädling von Kerria japonica. 511
— myriotheca, Schädling von Peucedanum Oreoselinum. 340
— petroselini var. apii, Schädling von Apium. 520
— — — —, — — — graveolens. 512
— — — — forma emaculata, Schädling von Apium graveolens. 340
— tritici, Schädling vom Weizen. 520
Seynesia ilicina n. sp., Schädling von Ilex. 511
Sisyrinchium graminoides, Schädigung durch Uromyces houstoniatus. 346
Skierka Agallocha n. sp., Schädling von Excoecaria Agallocha. 347
Smilax, Schädigung durch Aleyrodes. 372
— aspara, abnorme Blattbildung. 542
Sojabohne, Impfung mit Knöllchenbakterien. 506
Sorbus aucuparia, Schädigung durch Chorostate Sydowiana. 340
— —, — — Lepidosaphes pomorum. 535
Sordaria decipiens. 339
— vestita. 339
Sorghastrum, Schädigung durch Fusarium Bartholomaei. 510
Sorghum, Schädigung durch Ustilago panici miliacei. 520
—, — — Ustilago sorghi. 520
— halepense var. mutica, Schädigung durch Sphacelotheca Sorghi. 340
Sorosphaera Veronicae, Biologie. 513
— —, Schädling von Veronica. 513
Spathyema foetida, Schädigung durch Nectria semenicola. 345
Sphacelotheca Schweinfurthiana, Schädling von Imperata cylindrica 340
— Sorghi, Schädling von Sorghum halepense var. mutica. 340
Sphaeria barbirostris, Identität mit Lentonnita barbirostris. 510
Sphaerocreas javanicum n. sp. 510
Sphaeronaemella Mouglotii, Beziehung zu Nectria sinopica. 511
Sphaeronema flavo-viride, Identität mit Stilbella flavo-viridis. 510
Sphaerophragmium Muconae n. sp., Schädling von Mucuna. 347
Sphaeropsis malorum, Schädling vom Apfelbaum. 354
Sphaerostilbe coccophila, natürlicher Feind von Aleyrodesarten. 371
Sphaerotheca humuli, Schädling von Alchimilla. 525
— mors uvae, Schädling von Ribes grossularia. 520
— pannosa, Schädling von Rosa. 520
Spinat, Schädigung durch Peronospora effusa. 520
Spiraea lanceolata, Schädigung durch Cylindrosporium Fairmanianum. 341
Spiraeanthemum samoense, Gallenbildung durch Eriophyes samoensis. 375
Spirillum rubrum, Farbstoffbildung. 246
— —, Untersuchung. 238
— volutans, Ähnlichkeit mit S. rubrum. 255
— —, Geißelfärbung. 132
— —, Geißeln, Untersuchung. 135
— —, Untersuchung. 253
Spirogramma Boergesenii n. gen. et n. sp., Vorkommen in Dänisch-Westindien. 512
Spirophyllum tenue n. sp., Vorkommen in eisenhaltigem Wasser. 311
Spirosoma ferrugineum n. sp., Vorkommen in eisenhaltigem Wasser. 311
— solenoide n. sp., Vorkommen in eisenhaltigem Wasser. 311
Sporotrichum, natürlicher Feind von Aleyrodesarten. 371
— antophilum, Identität mit S. Poae. 346
— —, Schädling von Dinnthus. 346
— Poae, Identität mit S. anthophilum. 346
Stachelbeermeltau, amerikanischer, Vorkommen in Baden. 346
Stachylidium bicolor. 339
Stallmist s. Mist, Stall-.
Steinbrand, Immunität von Weizensorten gegen denselben. 391
Stemonitis maxima, Vorkommen in Dakota. 343
— Smithii, Vorkommen in Dakota. 343
Sterigmatocystis insueta. 339
— —, Biologie. 345
— nigra, endogene Konidienbildung. 334
— —, Konidienbildung, Wirkung der Temperatur. 345
Stickoxydul, Bildung beim Denitrifikationsprozeß. 30. 38
—, — durch Bacillus pyocyaneus 51
—, — — — Stutzeri. 51
—, — — Micrococcus denitrificans. 53
—, Sauerstoffquelle für Bakterien. 58
—, Stickstoffquelle für Bakterien 58
Stickstoff, Anreicherung im Waldboden. 327
—, Bindung durch Bakterien. 271. 320 329
—, — — Mischkulturen von Pseudomonas und Azotobacter. 271
Stickstoffkalk, Umsetzungen im Boden. 503
Stilbella, Schädling vom Kaffeebaum. 523
Stilbum flavidum, Schädling vom Kaffeebaum. 504
Streptococcus pyogenes, Vorkommen in Milch. 465

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF IOWA

Synchytrium endobioticum. 445
Syringa, Schädigung durch Aleyrodes. 372
—, — — Pseudomonas Syringae. 522
— vulgaris, Schädigung durch Myxosporium depressum. 341
Tabak, Schädigung durch Mamestra persicariae. 547
Tabakextrakt „Excelsior“, Wert als Bekämpfungsmittel. 547
Tarsonemus, Vorkommen auf Käse. 310
Tee, Fermentation ohne Mikroorganismen. 337
Teestrauch, Schädigung durch Calotermes militaris. 389
—, — — Xyleborus fornicatus. 389
Teiggärung s. Gärung, Teig-.
Temperatur, Wirkung auf das Auftreten von Haferflugbrand. 353
—, — — Konidienbildung von Aspergillus glaucus. 345
—, — — — — Sterigmatocystis nigra. 345
—, — — Vermehrung von Bac. coli. 281
Teratosperma singulare n. gen. et sp., Schädling von Ulmus parvifolia. 511
Tetraemulsion, Wert als Bekämpfungsmittel. 547
Tetramyxa parasitica. 514
— Triglochinis n. sp., Schädling von Triglochin palustre. 354
— — — —, Unterschied von T. parasitica. 354
Tetranychus, Schädling von Tomaten. 520
Thelymitra javanica, Schädigung durch Uromyces Thelymitrae. 347
Thlaspi ceratocarpum, Schädigung durch Puccinia Isiacae. 348
Tilletia belgradensis, Identität mit T. Velenovskyi. 349
— Hordei, Unterschied von T. Panćićii. 527
— Panćićii n. sp., Schädling von Hordeum vulgare. 527
— Secalis, Unterschied von T. Tritici. 526
— texana, Unterschied von T. Panćićii. 527
— Trabuti, Unterschied von T. Panćićii. 527
— Tritici, Schädling vom Weizen. 526
— —, Unterschied von T. Secalis. 526
— Velenovskyi, Schädling von Bromus arvensis. 349
Tilmadoche viridis, Vorkommen in Dakota. 343
Tinea oleaella, Schädling von Olea europaea 360
Toddalea aculeata, Schädigung durch Puccinia Toddaleae. 347
Tomaten, Schädigung durch Alternaria fasciculata. 369
—, — — Bakterien. 521
—, — — Colletotrichum lycopersici. 369
—, — — Fusarium. 369
—, — — Fusarium solani. 369
—, — — Rhizoctonia. 369
—, — — Tetranychus. 520
Torrubiella brunnea n. sp., Vorkommen auf Cocciden. 513
Tortrix viridana, natürliche Feinde derselben. 359
— —, Schädling von Eichen. 359
Tragopogon, Schädigung durch Cystopus cubicus. 520
Traubenwickler, Bekämpfung. 393. 394
Tremella. 512
Trichia persimilis, Vorkommen in Dakota. 343
Tricholoma transmutans, Mykorrhyzabildung an Eichen. 349
Triglochin palustre, Schädigung durch Tetramyxa Triglochinis. 354
Trigonotis peduncularis, Schädigung durch Aecidium Trigonotidis. 511
Triticum vulgare s. a. Weizen.
— —, Schädigung durch Puccinia dispersa. 512
— —, — — Ustilago Tritici. 512
Troctes corrodens n. sp., Vorkommen in Buchweizengrütze. 337
Tsuga canadensis, Schädigung durch Polyporus lucidus var. Tsugae. 350
Tubercularia vulgaris, Beziehung zu Nectria punicea. 511
Tuberculina microstigma n. sp., Schädling von Achillea Millefolium. 341
Tubifera ferruginosa, Vorkommen in Dakota. 343
Tympanis alnea, Beziehung zu Dothiorella inversa. 511
Tyroglyphus longior, Vorkommen auf Käse. 310
— siro, Vorkommen auf Käse. 310
— sironiformis, Vorkommen auf Käse. 310
Tyromyces. 512
Tyrosin, Vorkommen im Käse. 502
Uleomyces decipiens n. sp., Schädling von Quercus thalassica. 511
Ulme, Schädigung durch Leuchtgas. 530
Ulmus parvifolia, Schädigung durch Teratosperma singulare. 511
Uncinula polychaeta, Schädling von Celtis Tala. 512
Uredineen, Systematik. 348
Uredinopsis filicina. 524
Uredo Chonemorphae n. sp., Schädling von Apocynea Ichnocarpus bantamensis. 347
— orientalis n. sp., Schädling von Blechnum orientale. 347
— pedicellata n. sp., Schädling von Commelina. 347
— Vitexi n. sp., Schädling von Vitex leucoxylon. 347
Urocystis Dioscoreae n. sp., Schädling von Dioscorea Tokoro. 511
Uromyces andropogonis, Beziehung zu Aecidium violae. 346
— apiosporus, Schädling von Primula minima. 340
— Betae, Schädling von Beta vulgaris. 512

Uromyces Dactylidis, Schädling von Ranunculus alpestris. 431
— —, — — Ranunculus balbosus. 431
— —, — — Ranunculus,lanuginosus. 431
— —, — — Ranunculus platanifolius. 431
— —, — — Ranunculus polyanthemus. 431
— —, — — Ranunculus repens. 431
— discoideus n. sp., Schädling von Acacia. 347
— fabae, Schädling von Vicia faba. 512. 520
— houstoniatus, Beziehung zu Aecidium houstoniatum. 346
— —, Schädling von Houstonia caerulea. 346
— Payenae n. sp., Schädling von Payena Junghuniana. 347
— houstoniatus, Schädling von Sisyrinchium graminoides. 346
— ovirensis n. sp., Schädling von Primula Wulfeniana. 511
— Payenae n. sp., Schädling von Payena Suringariana. 347
— phaseoli, Schädling von Bohnen. 520
— striatus, Schädling von Medicago sativa. 512. 520
—, Thelymitrae n. sp., Schädling von Thelymitra javanica. 347
Urtica dioica, Schädigung durch Orthezia urticae. 535
Ustilago, Schädling von Paspalum dilatatum var. sacchariferum. 512
Ustilago antherarum, Schädling von Melandryum album. 364
— Avenae, Schädling von Avena sativa. 512
— bromivora, Schädling von Bromus mollis. 520
— —, — — — unioloides. 520
— Euchlaenae Arcangeli, Schädling von Euchlaena mexicana. 512
— Jensenii, Schädling von Gerste. 520
— Maydis, Schädling von Zea Mays. 512 520
— panici miliacei, Schädling von Sorghum. 520
— sorghi, Schädling von Sorghum. 520
— tritici, Infektionsversuche. 88
— —, Nachweis im ruhenden Weizenkorn. 95
— —, Schädling von Triticum vulgare. 512 520
— —, Sporenkeimung. 88
Vaccinium Myrtillus, Vorkommen von Arbutase. 285
Vandopsis, Schädigung durch Gloeosporium Vandopsidis. 513
Verbascum nigrum, Schädigung durch Septocylindrium bellocense. 340
Veronica, Schädigung durch Sorosphaera Veronicae. 513
Verticillium alboatrum, Schädling von Kartoffeln. 367
— heterocladum, natürlicher Feind von Aleyrodesarten. 371
Viburnum, Schädigung durch Aleyrodes. 372
Vicia cracca, Gallenbildung durch Physopus basicornis. 539
Vicia faba, Schädigung durch Uromyces Fabae. 512. 520
Viscum album, Vorkommen von Gossyparia ulmi. 106
Vitex leucoxylon, Schädigung durch Uredo Vitexi. 347
Vitis vinifera s. a. Weinstock.
— —, Schädigung durch Bacillus uvae. 521
Volutella Jaapii n. sp., Schädling von Pinus. 511
Volvaria. 512
Wagolin, Wert als Bekämpfungsmittel. 547
Wasser, Leitvermögen, elektrisches, Messung. 382
—, Sauerstoffzehrung. 551
—, Selbstreinigung. 382 551
—, Verunreinigung durch Whiskyfabrikabwässer. 499
—, Vorkommen von Bakterien. 280. 311
Wein, Klärung mit „Lactocolle“. 500
Weinstock s. a. Vitis vinifera.
—, Frostbeschädigung, Schutz gegen dieselbe. 395
—, Gallenbildung durch Wurzelläuse an Blättern. 533
—, Roncetkrankheit. 531
—, Schädigung durch Bakterien. 521
—, — — Gloeosporium ampelophagum. 520
—, — — Guignardia Bidwelli. 520
—, — — Milben. 531
—, — — Oidium Tuckeri. 520
—, — — Pestalozzia uvicola. 364
—, — — Phyllocoptes. 531
—, — — Phytophtus vitis 520
—, — — Plasmopara viticola. 520
Weizen s. a. Triticum vulgare.
—, Flugbrand, Bekämpfung durch Selektion. 545
—, —, Infektionsversuche. 88
—, Schädigung durch Bakterien. 521
—, — — Micrococcus tritici. 521
—, — — Septoria tritici. 520
—, — — Tilletia Tritici. 526
—, — — Ustilago tritici. 520
Willia anomala, Ähnlichkeit mit Endomyces fibuliger. 300
Wurzel, Ausscheidung, Bedeutung für Oxydationen im Boden. 506
—, Sekrete, chemische Untersuchung. 331
Wurzelknöllchen von Alnus glutinosa, Pilz in denselben. 515
— — Elaeagnus angustifolia, Pilz in denselben 515
Xanthicum italicum, Schädigung durch Oidium. 511
Xanthium spinosum, Schädigung durch Oidium. 511

Xyleborus fornicatus, Schädling vom Teestrauch. 389
Zea Mays s. a. Mais.
— —, abnormer Blütenstand. 542
— —, Schädigung durch Bacillus Zeae. 521
— —, — — Pseudomonas Stewarti. 521
— —, — — Puccinia Maydis. 512
— —, — — Ustilago Maydis. 512
Zerrenreblaus, Biologie. 532
Zitronen, Schädigung durch Rußtau. 520
Zuckerrohr s. a. Saccharum officinarum.
—, Schädigung durch Castnia licus. 538
—, — — Diatroea saccharalis. 523. 539
—, — — Marasmius sacchari. 505
Zuckerrübe s. a. Beta vulgaris.
—, Herz- und Trockenfäule, Wirkung der Bodenfeuchtigkeit. 368
Zuckerrübe, Herz- und Trockenfäule, Wirkung von Salpeterstickstoff. 368
—, — — — — der Witterung. 368
—, Schädigung durch Aphanomyces laevis. 367
—, — — Phoma Betae. 367
—, — — Pythium de Baryanum. 367
Zukalia Gynopogonis n. sp., Schädling von Gynopogon scandens. 513
— — — —, Unterschied von Z. juruana. 513
Zythia coeruleo-atra n. sp., Vorkommen auf Carpinus Betulus. 510
— fragariae n. sp., Schädling von Erdbeeren. 356
— resinae, Beziehung zu Biatorella resinae. 511

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Apparat zum Auffangen von Gärungsgasen. 32
— — Auswaschen von Bakterien. 134
— zur Bestimmung des Nitrifikationsvermögens. 114
— für Mikrobenkultur in Gasatmosphäre bei konstantem Druck. 57
Aspergillus niger, normale und plasmolysierte Hyphen (Taf. II, Fig. 63—66). 260
Bacillus amylobacter (Taf. II, Fig. 68—70). 260
— fluorescens (Taf. II, Fig. 71—73). 260
— nitroxus, Kultur auf Erbsenlaubagar (Taf. I, Fig. 3 u. 4). 63
— —, — — Fleischagar (Taf. I, Fig. 2). 63
— —, Sporenbildung (Taf. I, Fig. 5 u. 6). 63
— oxalaticus (Taf. II, Fig. 41—61 u. 67). 260
— ruminatus, (Taf. II, Fig. 62). 260
— sphaerosporus, Kultur (Taf. I, Fig. 1). 63
Bacterium caucasicum, Milchsäurebildung, Kurven (Taf. I—IV). 172
— —, Kultur (Fig. 1). 169
— —, Plattenkultur (Taf. I, Fig. 1—4, Taf. II, Fig. 5 u. 6). 178
Bakterien, Kolonien im Emmentaler-Käse. 30
Beta vulgaris, Regeneration der Wurzel in Agarkultur. 428
Calceolaria rugosa, infiziert durch Phytophthora omnivora (Taf II, Fig. 1). 270
Chelone glabra infiziert durch Tylenchus devastatrix (Taf. II, Fig. 2). 270
Chondromyces crocatus (Taf. I, Fig. 10, 12, 19—21, 27, 28, 30—34, Taf. II, Fig. 35—40). 260
Chrysophlyctis endobiotica (Taf. I, Fig. 4 bis 15, Taf. II, Fig. 16—28, Taf. III, Fig. 29—35). 446
Eprouvettenkultur, anaërobe. 47
Gärung, Apparat zum Auffangen der Gase. 32
Gossyparia ulmi, Borsten (Fig. b. u. c. 107
— —, Hinterleibsende (Fig. a.). 107
Hafer, Blätter mit Flecken durch Scolecotrichum graminis f. avenae (Taf. I, Fig. a bis c). 106
—, Querschnitt durch Blattflecken von Scolecotrichum graminis f. avenae (Taf. I, Fig. d u. e). 106
Hansen, Emil Christian, Portrait. 1
Hefe, Struktur (Fig. 1, 1a, 2). 408
Käse, Emmentaler, Bakterienkolonien. 30
Kartoffelknollen, Gallen durch Chrysophlyctis endobiotica (Taf. I, Fig. 1 u. 2). 446
Kolben für Mikrobenkultur in Stickoxydulatmosphäre. 54
Kulturgefäß. 427
Levisticum officinale, Blattflecken durch Pseudomonas Levistici (Taf. I, Fig. 1). 270
— —, Stengel infiziert durch Pseudomonas Levistici (Taf. I, Fig. 2 u. 3, 8). 270
Myxococcus ruber (Taf. I, Fig. 13, 14, 16, 17, 23—25, 29, Taf. II, Fig. 75). 260
— —, Fruchtkörper (Taf. I, Fig. 1). 260
— —, Kultur, (Taf. I, Fig. 2—9). 260
Nitrifikation, Kurven. 74. 76. 77
Polysphondylium violaceum (Taf. II, Fig. 76—78). 260
Pseudomonas Levistici (Taf. I, Fig. 4—7). 270
Spirillum rubrum (Taf. II, Fig. 79—82). 260
— volutans (Taf. II, Fig. 83—84). 260

Spirillum volutans, (Taf. I, Fig. 1—60, Taf. II, Fig. 11 bis 53, Taf. III, Fig. 1—5, Taf. IV, Fig. 1—9). 160
— —, Geißelzöpfe . 138
— —, Plasmolyse (Taf. II, Fig. 74). 260
— — bei Untersuchung im Dunkelfeld (Taf. II, Fig. 1—10). 160
Ustilago tritici, Mycel im Weizenkorn (Taf. I, Fig. 5—14). 101
— —, Sporenkeimung (Taf. I, Fig. 2 u. 3). 101
Ustilago tritici, Spore nach Behandlung mit Essigsäure (Taf. I, Fig. 1). 101
Weizen, Längsschnitt durch den Fruchtknoten mit Mycel von Ust. tritici (Fig. II) 94
—, — — — unteren Teil des Fruchtknotens (Fig. 1). 93
Weizenblüte, Narbenästchen mit darauf liegender gekeimter Spore von Ust. tritici (Taf. I, Fig. 4). 101

IV. Neue Literatur.

125. 460. 554.

Hofbuchdruckerei Rudolstadt.